UNIVERSITÉ D'ALGER

FACULTÉ MIXTE DE MÉDECINE ET DE PHARMACIE

ANNÉE 1951 — N° 89

Le PALUDISME EXPÉRIMENTAL DU RAT BLANC PAR PLASMODIUM BERGHEI

(Travail du laboratoire de Bactériologie de la Faculté mixte de Médecine et de Pharmacie d'Alger)

THÈSE

POUR LE DOCTORAT EN MÉDECINE

Présentée et soutenue publiquement le 30 *octobre* 1951
par

GRELLET Paul

né le 26 *juillet* 1925, *à Cornimont* (*Vosges*)

JURY :

MM. FABIANI G., professeur de Bactériologie ..... *Président*
MANDOUL, professeur de Parasitologie .....
JAHIER A., agrégé (obstétrique) ..... *Juges*
LARMANDE A., agrégé (ophtalmologie) .....

1951

Digitized by the Internet Archive
in 2026

https://archive.org/details/IA41542703_0006

UNIVERSITÉ D'ALGER

FACULTÉ MIXTE DE MÉDECINE ET DE PHARMACIE

ANNÉE 1951 — N° 89

Le PALUDISME EXPÉRIMENTAL DU RAT BLANC PAR PLASMODIUM BERGHEI

(Travail du laboratoire de Bactériologie de la Faculté mixte de Médecine et de Pharmacie d'Alger)

THÈSE

POUR LE DOCTORAT EN MÉDECINE

Présentée et soutenue publiquement le 30 *octobre* 1951
par

GRELLET Paul

né le 26 *juillet* 1925, *à Cornimont* (*Vosges*)

JURY :

MM. FABIANI G., professeur de Bactériologie ..... *Président*
MANDOUL, professeur de Parasitologie .....
JAHIER A., agrégé (obstétrique) ..... *Juges*
LARMANDE A., agrégé (ophtalmologie) .....

R. UNIV.
BIBLIOTHEEK
UTRECHT

UNIVERSITE D'ALGER

FACULTÉ MIXTE DE MÉDECINE ET DE PHARMACIE

Doyen	MM. SARROUY O. ✻ ◎ ⚚ A. ✪
Doyens honoraires	LEBLANC ✻ ⚚ I. ✪
	GILLOT I. ✪
	LAFFONT O. ✻ ⚚ I. ✪ O.S.
	LEBON C. ✻ ⚚ I. ✪
Assesseur	GIBERTON ✻ I. ✪

PROFESSEURS

Clinique médicale	MM. AUBRY O. ✻ ⚚ I. ✪
Clinique des maladies infectieuses.	BENHAMOU C. ✻ ⚚ I. ✪
Histologie et embryologie	KEHL I. ✪
Chimie biologique et médicale....	GIBERTON ✻ I. ✪
Matière médicale	FOURMENT ✻ I. ✪ M.A.
Clinique obstétricale et gynécolog.	LAFFONT O. ✻ ⚚ I. ✪ O.S.
Clinique thérapeutique médicale..	LEBON C. ✻ ⚚ I. ✪
Physiologie	MALMEJAC ✻ I. ✪
Anat. path. et oncol. hum. et comp.	MONTPELLIER ✻ I. ✪
Physique médicale	PORTES O. ✻ ⚚ I. ✪
Clinique de dermato-syphiligraphie	HADIDA ⚚
Anatomie	DE RIBET ✻ ⚚ I. ✪
Clinique médic. et hygiène infant.	SARROUY O. ✻ ◎ ⚚ A. ✪
Clinique ophtal. et ophtal. intertr.	TOULANT O. ✻ ⚚ I. ✪
Chimie générale pharm. et toxicol.	GRANGAUD A. ✪
Clinique chirurgicale	N...
Accouchement et obstétricie sociale	HOUEL O. ✻ ⚚ I. ✪
Thérapeutique chirurgicale	DUBOUCHER I. ✪
Hygiène, hydrologie et climatolog.	LACROIX ⚚ I. ✪
Pathologie générale et médicale...	RAYNAUD R. ⚚
Clinique chirurg. infant. et orthop.	LOMBARD ✻ ⚚ I. ✪
Pharmacie	MONNET A. ✪
Clinique de neuro-psychiatrie....	MANCEAUX ✻ ⚚
Parasitologie et zoologie médicale.	MANDOUL
Médecine légale et médec. de trav.	THIODET ✻ ⚚ A. ✪
Bactériologie	FABIANI A. ✪
Clinique urologique	SABADINI ⚚ I. ✪
Botanique	ROQUES I. ✪
Clinique d'oto-rhino-laryngologie..	GIRAUD
Clinique de phtisiologie	LEVI-VALENSI ✻ ⚚
Pathologie chirurgicale	N...

PROFESSEURS HONORAIRES

MM. BENOIT ✻ ⚚ I. ✪	MM. ABOULKER ✻ ⚚ I. ✪
CABANES ✻ ⚚ I. ✪	POROT I. ✪
COURRIER ✻ ⚚ I. ✪	RAYNAUD M. ✻ ⚚ I. ✪
GILLOT I. ✪	WEBER I. ✪
LEBLANC ✻ ⚚ I. ✪	

MAITRES DE CONFERENCES AGREGES

Physiologie	MM.	CHARDON
Physique médicale		CHECHAN I. ✿
Pharmacie		COLLET
Chimie médicale		N...

AGREGES

Accouchement	MM.	JAHIER A. ✿
Médecine		BOULARD
		FABREGOULE
Pédiatrie		COMBE
Chirurgie		GOINARD A. ✿
		LIARAS
		VERGOZ ✱
Anatomie		BOURGEON (✱).
Histologie et embryologie		N...
Anatomie pathologique		LAFFARGUE
Médecine légale		MICHAUX
Histoire naturelle pharmaceutique.		N...
Oto-rhino-laryngologie		N...
Dermato-syphiligraphie		N...
Bactériologie		N...
Chimie génér. pharm. et toxicolog.		N...
Neuro-psychiâtrie		SUTTER (✱, ✱).
Ophtalmologie		LARMANDE
Odonto-stomatologie		PERI.

AGREGE LIBRE

Physiologie	M.	BATTEZ

SERMENT D'HIPPOCRATE

En présence des Maîtres de cette Faculté, de mes chers condisciples et selon la tradition d'HIPPOCRATE, je promets et je jure d'être fidèle aux lois de l'honneur et de la probité dans l'exercice de la médecine.

Je donnerai mes soins gratuits à l'indigent, et n'exigerai jamais un salaire au-dessus de mon travail. Admis dans l'intérieur des maisons, mes yeux ne verront pas ce qui s'y passe, ma langue taira les secrets qui me seront confiés et mon état ne servira pas à corrompre les mœurs, ni à favoriser le crime.

Respectueux et reconnaissant envers mes Maîtres, je rendrai à leurs enfants l'instruction que j'ai reçue de leurs pères.

Que les hommes m'accordent leur estime si je suis fidèle à mes promesses. Que je sois couvert d'opprobre et méprisé de mes confrères si j'y manque.

A MES PARENTS,

En témoignage d'affection et de profonde reconnaissance.

A MA GRAND'MERE,

A MES SŒURS

A MADAME L. VAQUIER,

AU DOCTEUR M. LE GENISSEL,

A TOUS LES MIENS ;

A MONSIEUR LE PROFESSEUR FABIANI,
Professeur de Bactériologie - Médecin des Hôpitaux,

qui nous a accueilli dans son laboratoire et nous a fait le grand honneur de nous permettre l'élaboration de cette thèse. Nous n'oublierons jamais la bienveillance et la sollicitude qu'il nous a manifestées. En témoignage de sincère reconnaissance et de profond respect.

A MONSIEUR LE PROFESSEUR MANDOUL,
Professeur de Parasitologie,

qui s'est intéressé à notre thèse et a bien voulu accepter de la juger. Nous l'en remercions.

A MONSIEUR LE PROFESSEUR AGREGE JAHIER,

Nous avons toujours à la mémoire ses précieux enseignements. Il a bien voulu être notre juge. Nous lui en exprimons notre vive gratitude.

A MONSIEUR LE PROFESSEUR AGREGE LARMANDE,

qui nous a toujours accordé son amicale sympathie. En témoignage de notre sincère attachement.

A MONSIEUR LE DOCTEUR E. GRUNY,

Il a accordé une bienveillante attention à tous nos travaux et nous a aidé par de judicieux conseils. Nous lui exprimons nos sentiments reconnaissants.

A MONSIEUR LE DOCTEUR R. VARGUES,

En remerciement pour la part qu'il a prise à cette thèse et l'aide précieuse qu'il nous a apportée.

A

MONSIEUR G. FULCHIRON,

MESDEMOISELLES M.-A. IZZO et J. CLAUSSE,

MADAME A. VERAIN,

pour leur amicale collaboration.

A TOUS MES AMIS,

Je dédie cette thèse.

INTRODUCTION

Dans une note parue le 31 mars 1948 dans les *Annales de la Société belge de médecine tropicale,* Vincke et Lips faisaient part de la découverte qu'ils avaient faite d'un nouvel hématozoaire parasite d'un rongeur sauvage du Congo (le *Thamnomys surdaster*) qu'ils proposaient d'appeler *Plasmodium berghei.*

Ce *Plasmodium* offrait, pour aborder les problèmes de la pathologie générale du paludisme des possibilités d'expérimentation sans précédent, puisqu'il s'est révélé pathogène pour de nombreux rongeurs, en particulier pour la souris blanche et le rat blanc. L'infection de la souris blanche a suscité de nombreuses recherches ; par contre, la maladie du rat blanc a été moins étudiée et cet animal a l'avantage de ne pas avoir, comme la souris, une infection toujours mortelle, ce qui permet d'analyser les caractères et le mécanisme de l'immunité dans ce paludisme animal.

Pour ces raisons, l'infection du rat blanc a été étudiée au laboratoire de bactériologie de la Faculté de Médecine d'Alger pendant l'année scolaire 1950-1951. Ce sont ces recherches, entreprises sous la direction du Professeur Fabiani, et pour une part en collaboration avec MM. R. Vargues, G. Fulchiron, Mlles M.-A. Izzo et J. Clausse, que nous rapportons. Elles portent sur 220 animaux.

Il convient de préciser qu'il ne s'agit pas du « paludisme naturel » produit par pénétration de sporozoites (habituellement par piqûre de moustique) mais d'un « paludisme expérimental » provoqué par l'injection de trophozoites. On pourrait encore l'appeler « paludisme d'inoculation » ou « paludisme artificiel » au sens où l'entendent les paludologues contemporains comme Mark F. Boyd ou S.F. Kitchen. Si nous nous limitons à ce « paludisme expérimental » c'est que l'on ne connaît pas encore avec certitude l'hôte définitif. Un moustique, *Anopheles dureni,* est probablement l'hôte définitif et le vecteur de la maladie des rats sauvages dans la nature, mais il n'a pas encore été possible d'étudier la maladie naturelle du rat blanc.

PLAN

PREMIERE PARTIE

HISTORIQUE

DEUXIEME PARTIE

TRAVAUX PERSONNELS

CHAPITRE 1. — Techniques et matériel d'étude.

CHAPITRE 2. — Caractères généraux de la maladie du rat.

CHAPITRE 3. — Période pré-patente.

CHAPITRE 4. — Parasitologie.

CHAPITRE 5. — Hématologie.

CHAPITRE 6. — Etude clinique.

CHAPITRE 7. — Associations morbides.

CHAPITRE 8. — Immunité.

CHAPITRE 9. — Anatomie pathologique.

CHAPITRE 10. — Action des médicaments antimalariques.

TROISIEME PARTIE

COMMENTAIRES

I. — Comparaison avec d'autres maladies infectieuses où existe une atteinte parasitaire des globules rouges.

II. — Discussion des résultats de nos expériences.

CONCLUSION

PREMIERE PARTIE

HISTORIQUE

RAPPEL DES DONNEES BIBLIOGRAPHIQUES RELATIVES A L'INFECTION DU RAT

Comme le *Plasmodium berghei* a été découvert sur un rat sauvage, le *Thamnomys surdaster*, c'est d'abord à des rats sauvages que l'on s'est adressé pour son étude. Vincke *et* Lips, pour conserver la souche, inoculaient des rats capturés dans une galerie forestière des environs d'Elisabethville ; puis, ils utilisèrent des *Rattus rattus*, variété *frugivorus* et *alexandrinus*, ainsi que la souris blanche. Ils ont constaté que le rat a une infection qui est mortelle dans 50 % des cas.

Les premières publications des autres expérimentateurs montrent que ceux-ci effectuèrent le plus souvent leurs recherches au moyen de la souris blanche : études sur l'incubation de la maladie, les modifications hématologiques et histologiques et l'action des antimalariques.

Mais les investigations portent aussi sur le *Rattus rattus*, le Cotton rat, le Mérion, le Hamster, la Roussette (*Roussetus lacchi*).

Or, depuis le premier mémoire de Vincke, le *rat blanc* n'a suscité qu'un petit nombre de travaux et surtout d'auteurs français : nous voyons que C. Levaditi signale son intérêt pour la conservation à long terme de la souche ; Ed. Sergent se sert de cet animal comme témoin de comparaison dans ses études sur le paludisme expérimental du Hamster ; mais, c'est surtout H. Galliard et Lapierre qui l'utilisèrent dans leurs investigations.

C. Levaditi rend compte des résultats obtenus par l'inoculation intrapéritonéale de deux rats blancs : « Le rat blanc, inoculé par voie intrapéritonéale avec le *Plasmodium berghei* peut conserver le virus dans le sang, le cerveau, le foie et la rate pendant au moins 45 jours. Il peut servir à l'entretien de ce Plasmodium dans les laboratoires ».

Ed. Sergent et Mme A. Poncet ont étudié parallèlement l'infection des mérions, des souris et des rats. Les 5 rats blancs de leurs expériences ont présenté une infection bénigne qui « ressemble à celle des souris blanches, mais l'accès parasitaire aigu n'est pas toujours fatal et fait place, assez souvent, à un stade d'infection latente métacritique ».

Les expériences de H. Galliard sur le rat blanc sont rapportées dans 3 articles.

Dans le bulletin de la Société de Pathologie Exotique de 1950 (séance du 12 octobre), H. Galliard présente une description morphologique du parasite dans le sang périphérique, et dans les frottis de rate ; il observe les résultats de la splénectomie : « l'aspect de la préparation rappelle celui du sang de souris au point de vue de l'intensité de l'infection. Le polyparasitisme des hématies nucléées est remarquable. L'évolution est la même que chez la souris et se termine par la mort en 15 à 17 jours. Quant au point de vue anatomo-pathologique, l'auteur signale qu'il n'y a rien de particulier à signaler dans les coupes d'organes, sinon une accumulation de pigment dans le foie. Les capillaires contiennent de nombreuses hématies parasitées ».

A la séance du 25 mars 1950 de la Société de Biologie, Gaillard et Lapierre étudient les effets de la splénectomie sur l'évolution et les rechutes chez le rat blanc. Ils concluent que « la splénectomie provoque une rechute de l'infection, mais elle présente les mêmes caractères de durée et de bénignité que la primo-infection chez le rat normal. La résistance acquise au cours de la primo-infection est suffisante pour que l'évolution ne soit pas aussi grave que chez le rat inoculé après splénectomie ». Les auteurs traitent, dans la même communication, des modifications de la formule leucocytaire au cours de la primo-infection et pendant la rechute qui suit la splénectomie.

Au 5e Congrès International de Microbiologie, à Rio de Janeiro, en août 1950, H. Galliard présente une communication dont l'essentiel est développé ultérieurement à la séance du 13 décembre 1950 de la Société de Pathologie Exotique.

H. Galliard et J. Lapierre, sous le titre « Infection à *Plasmodium berghei* chez le rat blanc », y précisent l'influence de l'âge et du poids sur l'évolution de l'infection ; leur étude porte sur des lots d'animaux de poids différents étudié au triple point de vue de l'infection chez le rat neuf, de l'infection chez le rat préalablement splénectomisé, de l'infection chez le rat infecté et spontanément guéri, mais rechutant sous l'influence d'une splénectomie. En terminant, ils signalent leurs essais, peu efficaces, d'immunisation des rats au moyen d'injection intradermique de sang virulent et une tentative qu'ils ont faite de rendre plus sensible à l'infection les rats âgés en les traitant par du stérandryl.

J. Hill, dans un article paru dans les « Annals of Tropical Medicine », en octobre 1950, traite de l'effet schizonticide sur le *Plasmodium berghei* de quelques médicaments antimalariques et fait part de ses observations sur l'évolution de l'infection chez des rats, des souris et des hamsters. Il note que l'évolution est plus aiguë chez les souris que chez les rats.

Chez le rat il est habituel que l'infection disparaisse du sang périphérique durant la 3e semaine de l'infection. Chez un animal au moins, elle disparaît après qu'il y ait eu un degré considérable d'anémie, avec 65 % d'hématies parasitées. Il fait remarquer aussi que la rate est augmentée de volume et décolorée quoique le foie soit souvent presque normal en apparence, et note la présence, sur les frottis de foie et de rate, de petites formes extracellulaires du parasite, venant probablement d'érythrocytes détruits.

Addendum.

Notre travail était déjà rédigé avant que nous ayons pu prendre connaissance d'importants travaux que nous résumons ici.

G. Raffaele et A. Baldi ont étudié la morphologie du parasite et complété la description qui en avait été faite, insistant sur le polyparasitisme des hématies qui sont hypertrophiées et basophiles. Ils ont réalisé l'infection des rats en faisant des injections (sous-cutanées, dans la queue) de sang parasité. Sur 21 rats adultes ainsi traités, 16 contractèrent

l'infection après une première inoculation ; des 5 autres animaux, un s'est infecté à la deuxième inoculation, un autre à la troisième inoculation. Parmi les 9 rats chez lesquels on laissa évoluer l'infection, il n'y eut que 2 morts. Par contre, l'infection est beaucoup plus sévère chez les jeunes rats pendant les deux premiers mois de la vie (52).

A. Corradetti a d'abord analysé les caractères de l'immunité dans l'infection spontanément curable du rat (8). Cette infection ne produit pas de récidive et s'éteint en une période de 28 à 50 jours après la fin de l'attaque primaire. Il reste un état immunitaire en l'absence de parasites qui est suffisant pour empêcher la réinfection avec une souche homologue pendant une période d'au moins 205 jours. Cette immunité acquise est maintenue en grande partie par la rate : la splénectomie permet la réussite d'une réinoculation, qui produit une infection chronique avec positivité du sang périphérique pendant une durée de 220 à 255 jours. Corradetti a aussi insisté, comme l'avait fait A. Baldi (1), sur l'affinité élective des hématozoaires pour les hématies jeunes et en tire d'intéressantes déductions sur la pathologie de l'affection (9).

Tel est le résumé des travaux consacrés à l'infection du rat blanc par *Plasmodium berghei*.

DEUXIEME PARTIE

TRAVAUX PERSONNELS

CHAPITRE I

TECHNIQUES ET MATERIEL D'ETUDE

1) Les rats.

Nos animaux étaient des *rats blancs* albinos (mais n'appartenaient pas à une race pure) ; pour les recherches sur l'avitaminose A, nous avons eu recours à des rats de race Wistar. Leur nourriture était constituée par des graines, de la salade et du pain.

2) La souche d'hématozoaires.

Nous nous sommes servis de la souche Keyberg qui nous a été obligeamment donnéę par M. le Professeur Dubois, directeur de l'Institut de médecine tropicale d'Anvers. Les *passages* ont été fait habituellement par voie intrapéritonéale : du sang prélevé à la queue d'un animal très infecté est dilué dans de l'eau citratée ou dans du liquide de Ringer. Au début de nos expériences nous injections approximativement une goutte de sang, c'est-à-dire un dixième de centimètre cube. Mais, en raison de l'imprécision de cette technique, nous avons eu recours à l'*inoculation de quantités connues d'hématozoaires,* comme cela a été fait pour d'autres infections plasmodiales et nous avons employé comme dose de routine la quantité de 100.000 hématies parasitées, dans un volume de 1 ou 2 cc. de liquide de Ringer ce qui permet une comparaison plus précise des résultats.

Pour obtenir le nombre d'hématozoaires qui doit être inoculé nous employons la technique suivante :

Un premier prélèvement de sang à un animal infecté est étalé sur lame et coloré au Giemsa, ce qui permet d'établir au préalable le pourcentage de globules rouges parasités

et même le nombre d'hématozoaires contenu dans 100 globules. Puis on prélève quelques gouttes de sang à ce même animal donneur et on fait une suspension en liquide de Ringer. Une numération, à l'aide d'une cellule de Malassez, indique le nombre d'hématies par millimètre cube de suspension. On procède alors à des dilutions, toujours en liquide de Ringer, pour avoir dans un volume connu (en général un centimètre cube), le nombre de parasites que l'on désire inoculer. Ces opérations de dilution et de numération durent au plus 10 minutes.

3) Observation de la maladie.

Pour suivre l'*évolution de l'infection* on ne peut guère recourir à l'examen clinique de l'animal, comme nous le verrons plus loin : les courbes de poids et de température ne donnent guère de renseignements. On ne peut pratiquement suivre que l'*évolution de la parasitémie*. Et c'est l'intensité et la durée de cette infection sanguine qui, associée à la notion de mort ou de survie, permettra de décrire, sauf indications particulières, les différentes formes de la maladie, « formes cliniques » qui seront surtout des formes évolutives.

a) *Technique de l'examen du sang.*

Le sang a été prélevé à la queue ou à l'oreille et les examens de sang ont été faits selon les techniques habituelles : frottis fixés à l'alcool éthylique à 95° et colorés avec le colorant de Giemsa. Sauf indications particulières, les examens de sang ont été fait tous les deux jours.

L'appréciation de l'intensité de l'infection a été faite :

— soit par détermination du nombre absolu des hématies parasitées ou des hématozoaires par mm^3 de sang ;

— soit en établissant le nombre d'hématies parasitées pour 100 globules rouges.

Nous reviendrons sur ces techniques au chapitre de Parasitologie.

Il suffit en général de faire un examen de sang tous les deux jours.

b) Si le taux des parasites dans le sang est très faible, l'examen microscopique ne permet pas de les observer, on peut alors, rechercher la *virulence du sang*, par injection de quelques gouttes de sang à un animal neuf (rat ou souris).

c) Enfin, pour déceler une *infection latente* il faut recourir à la splénectomie ou mieux, à l'ablation simultanée de la rate et des surrénales qui déclancheront une rechute parasitémique. On peut aussi injecter la rate broyée à un animal neuf.

Abréviations.

Nous indiquons ici la signification des différentes abréviations que nous emploieront :

I.P.	=	Inoculation intrapéritonéale.
I.C.	=	Inoculation intracardiaque.
I.D.	=	Inoculation intradermique.
I.M.	=	Inoculation intramusculaire.
+	=	Signifie la présence de rares hématies parasitées dans un frottis de sang à un taux inférieur à 1 pour 1.000 globules rouges.
G.R.P.	=	Globule rouge parasité.
%	=	Pourcentage d'hématies parasitées.
P.L.	=	Plasmodium.
θ	=	Mort spontanée.

CHAPITRE II

CARACTERES GENERAUX DE LA MALADIE DU RAT

Un rat adulte reçoit dans le péritoine une petite quantité de sang d'un rat infecté. Après 3 ou 4 jours, des hématozoaires apparaissent dans son sang en petit nombre (il faut regarder plusieurs champs de microscope pour voir une hématie parasitée). Puis ce nombre augmente rapidement : 2 jours plus tard, il y a 5 % des globules rouges parasités ; après une semaine, la proportion en est de 30 à 50 %, parfois plus. L'anémie est importante, manifestée tant par la pâleur des oreilles que par la diminution très grande du nombre des globules rouges. L'évolution est alors très rapide : ou bien l'animal meurt, ou bien, en peu de jours (de 2 à 4), les hématozoaires deviennent de moins en moins nombreux et disparaissent du sang circulant.

Ainsi, nous constatons une infection des globules rouges apparaissant et évoluant très rapidement, déterminant une anémie intense, ayant une allure pernicieuse et provoquant la mort dans une proportion importante de cas ou bien évoluant très vite vers une guérison spontanée.

En cas de mort, à l'autopsie, nous voyons la rate très grosse, congestionnée et ayant une teinte brune ; le foie légèrement hypertrophié est lui aussi de couleur marron-brunâtre. On trouve dans tous les organes de très nombreux hématozoaires et du pigment malarique en grande abondance.

Si l'évolution s'est faite vers la guérison, l'animal paraît bien portant, sa courbe de poids s'élève régulièrement, il peut se reproduire. Il semble donc guéri et pourtant, bien qu'il n'y ait pas de rechute spontanée, des hématozoaires

persistent (qu'une splénectomie peut réveiller), la rate reste grosse et l'animal est réfractaire à une réinoculation.

A la *période pré-patente,* pendant laquelle on ne décelait pas d'hématozoaires dans le sang périphérique, a donc succédé une *période patente,* quand l'infection sanguine est manifeste, puis une *période d'infection latente.*

Nous indiquerons, au chapitre Parasitologie, d'après quels critères parasitologiques et hématologiques, nous avons été amenés à distinguer dans la période patente 4 stades : phase de début, phase d'état, phase critique et phase de déclin.

Tels sont les traits généraux de cette maladie expérimentale dont nous allons reprendre tous les caractères en détail.

CHAPITRE III

PERIODE PRE-PATENTE

L'infection expérimentale du rat blanc par *Plasmodium berghei* évolue presque entièrement, sans manifestations cliniques décelables. Bien que le rat infecté ait une température moins régulière que celle du rat normal, on n'observe aucun accès fébrile caractéristique du début de la maladie. Les signes cliniques (apathie, décoloration des oreilles, poils hérissés, hypothermie...), ne deviennent évidents qu'aux approches de la mort. Et les modifications hématologiques ne se produisent que quand le parasitisme sanguin est déjà important.

Aussi pour désigner la période pendant laquelle l'animal inoculé ne présente aucun signe d'infection, ne peut-on parler de « période d'incubation », terme ayant un sens clinique, mais de « *période pré-patente* », selon la terminologie proposée par James, ce qui correspond au temps qui s'écoule entre l'introduction du parasite et sa première mise en évidence dans le sang périphérique. Le paludisme humain d'inoculation et même le paludisme anophélien, illustrent bien cette distinction puisque souvent les hématozoaires sont décelables dans le sang avant qu'apparaissent les signes cliniques : la période pré-patente est alors plus courte que la période d'incubation.

Pour apprécier et interpréter la plus ou moins grande rapidité d'apparition de la maladie chez le rat impaludé, on ne peut donc étudier que le stade pré-patent. C'est ce que nous avons fait en essayant, d'après l'observation de 120 animaux, d'analyser les facteurs qui régissent la durée de cette période, d'en dégager la signification et d'étudier son

influence sur l'évolution de la maladie. Les résultats de ces recherches ont fait l'objet d'un mémoire présenté à la Société de Pathologie Exotique en collaboration avec G. Fabiani, R. Vargues, G. Fulchiron et Mme A Vérain (23).

I. Durée de la période pré-patente

A. Étude expérimentale des facteurs qui en déterminent la durée.

1° *Influence du nombre d'hématozoaires inoculés* sur la durée de la période pré-patente.

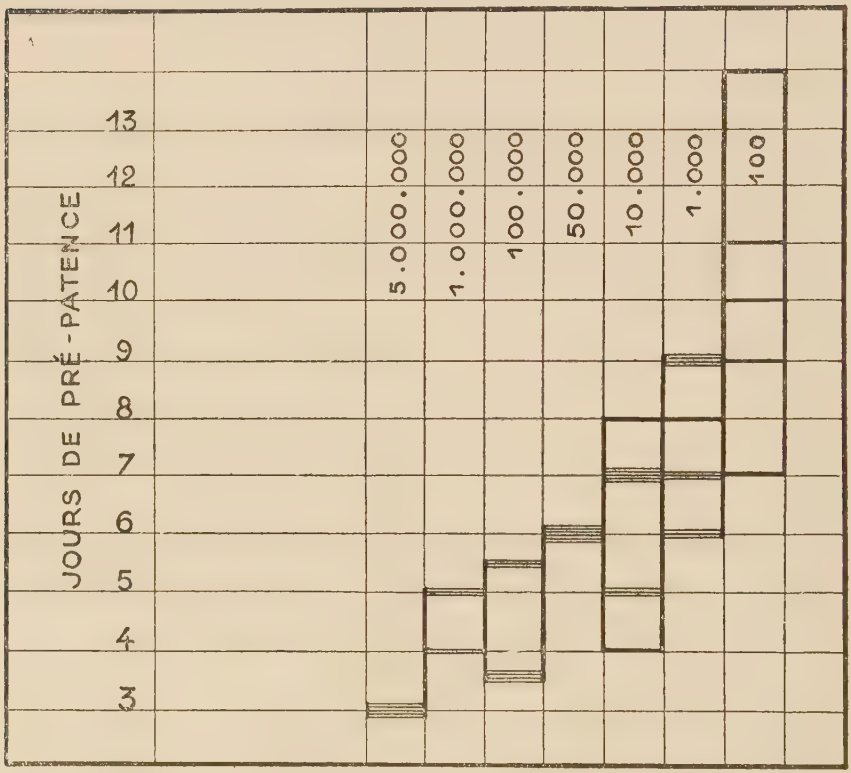
C'est la voie intrapéritonéale que nous avons choisie pour étudier l'influence de la quantité d'inoculat sur la durée de la pré-patence, bien que les hématozoaires ne soient pas introduits directement dans le sang circulant ; mais Cunningham, Hahn et Mc Kee ont montré que la sérieuse péritonéale est facilement traversée par les hématies, et G. Fabiani et R. Vargues ont observé que des hématies parasitées pouvaient apparaître dans le sang 15 minutes après l'inoculation intrapéritonéale (25).

49 rats ont été inoculés avec un nombre plus ou moins grand d'hématozoaires. La durée de la période pré-patente, en fonction des quantités inoculées est indiquée dans le tableau suivant, qui rapporte les moyennes obtenues :

Quantité inoculée	Durée moyenne de la période pré-patente	Pourcentage d'échecs
5.000.000 à 1.000.000	3 jours	0 %
200.000 à 100.000	4,3 »	0 %
50.000	6 »	0 %
20.000 à 10.000	6,5 »	0 %
2.000 à 1.000	7,1 »	8 %
200 à 100	10,2 »	15 %

De ces chiffres il ressort que la durée de la période pré-patente varie en raison inverse du nombre de *Plasmodium* inoculés. Remarquons que l'inoculat doit contenir au moins 10.000 hématozoaires pour que l'infection soit réalisée de façon régulière.

Si au lieu de ces chiffres moyens nous portons sur un graphique les chiffres réels observés, nous constatons de notables écarts autour de ces moyennes :



Ce graphique montre donc que, toutes choses égales, dans le mode d'inoculation et le nombre d'hématozoaires injectés, la durée du stade pré-patent peut subir de grandes variations : ces écarts révèlent qu'il existe d'autres facteurs déterminant le temps de pré-patence.

2° *Influence de la qualité de l'inoculat* sur la durée de la période pré-patente.

Nous avons vu que l'on enregistrait avec des inoculats quantitativement identiques, des écarts importants dans la durée de la période de pré-patence et nous en déduisions que d'autres facteurs intervenaient.

L'un d'eux est en relation avec la qualité de l'inoculat : lorsque les parasités inoculés proviennent d'un animal en début d'infection, la période pré-patente est plus courte que si le même nombre d'hématozoaires est prélevé chez un animal en fin d'infection (même si celle-ci évolue ultérieurement vers la mort). Les chiffres suivants illustrent ce fait :

Nombre d'hématozoaires	provenant d'un animal en début d'infection	provenant d'un animal en fin d'infection
	période pré-patente de	période pré-patente de
100.000	4 jours	5 jours
1.000	6,5 »	7,5 »
100	9 »	10 »

Cette observation peut s'expliquer par l'intervention de facteurs humoraux, d'anticorps surtout, qui s'opposent à la multiplication des hématozoaires ou en favorisent la phagocytose.

3° *Influence de la voie d'inoculation* sur la durée de la période pré-patente.

En plus des 49 rats ayant servi aux expériences précédentes de numération, 71 rats ont été inoculés par des voies diverses. Dans tous ces cas, la quantité d'hématozoaires inoculée était forte, de l'ordre du million. Sept voies d'inoculation ont été éprouvées : voie intrapéritonéale (voie de routine), voie cérébrale, voie oculaire, voie intradermique, voie sous-cutanée, voie intracardiaque, voie intramusculaire.

Les résultats ont été les suivants :

Voie d'inoculation	Nombre d'animaux expérimentés	Durée de la période pré-patente	Nombre d'échecs
Intracardiaque	4	Absence de P-P	0
Intracérébrale	3	Dose forte : 2 jours » faible : 6 jours	0 0
Intrapéritonéale	41	1 à 5 jours	1
Chambre antérieure de l'œil	1	4 jours	0
Intradermique	6	5 à 10 jours	2
Sous-cutanée	14	Pas d'infection	14
Intramusculaire ...	2	Pas d'infection	2

Remarques :

a) L'inoculation par *voie sous-cutanée* s'est toujours révélée inefficace. 12 rats ont été ainsi inoculés avec des doses fortes variant de 100.000 à plusieurs millions d'hématies parasitées. Le volume de l'inoculat était de 1/2 cc et l'injection faite indifféremment sous la peau du dos ou du ventre. Nous avons aussi inoculés 2 rats sous la peau d'une patte postérieure pensant que le tissu cellulaire sous-cutané d'une patte pouvait avoir une texture différente du tissu cellulaire sous-cutané de l'abdomen puisque nous savons que l'œdème produit par injection d'ovalbumine chez le rat se traduit surtout aux pattes (Halpern). Aucun de ces 14 rats n'a présenté d'infection alors que tous furent impaludés par une réinoculation intrapéritonéale.

Il est intéressant de signaler que chez deux de ces animaux nous avons pu voir à plusieurs reprises (respectivement 7 et 11 jours après l'inoculation), quelques rares *plasmodium* qui disparurent sans que l'infection ait pris quelque importance.

5 parmi ces 14 rats ont été splénectomisés. La *splénectomie* n'a pas réveillé d'infection plasmodiale alors que 4 ont

eu un réveil d'infection à Bartonella muris. Deux de ces rats ont été par la suite surrénalectomisés. Nous avons obtenu un nouveau réveil de l'infection à Bartonella muris, sans voir apparaître un seul hématozoaire. Il ne s'était donc pas produit d'infection inapparente d'emblée.

Nous avons aussi inoculé, par voie sous-cutanée, 3 rats, en ajoutant à l'inoculat (20.000 hématies) 12,5 unités d'*hyaluronidase* sans obtenir de meilleurs résultats.

3 autres animaux ont été inoculés par cette même voie après *surrénalectomie* préalable. Les résultats ont encore été négatifs.

Tous ces essais n'ont donc abouti qu'à des échecs. Sans doute faut-il penser que la faible vascularisation et le cloisonnement du tisu cellulaire sous-cutané du rat ont empêché la migration des hématozoaires dont la plupart sont morts in situ. Les quelques parasites qui sont passés dans le sang et que nous avons eu la chance de voir ont été probablement trop peu nombreux pour pouvoir provoquer l'infection.

Signalons, cependant, que nous avons inoculé par voie sous-cutanée 3 petits rats nouveau-nés et que chez 2 d'entre eux nous avons obtenu le développement de l'infection.

b) 2 essais d'inoculation par voie *intramusculaire* ont abouti à des échecs. En dehors de cette dernière voie et de la voie sous-cutanée les autres voies se sont révélées utilisables.

c) Nous discuterons plus loin des causes de l'échec constaté dans un cas d'inoculation intrapéritonéale.

d) Signalons dès maintenant que la voie d'inoculation, si l'on ne tient pas compte des différences de durée de la période pré-patente, n'affecte pas l'allure de la maladie ; la voie cérébrale ne révèle pas de neurotropisme ; l'inoculation intradermique n'est suivie d'aucune lésion macroscopique ; mais après inoculation dans la chambre antérieure de l'œil, on note un afflux leucocytaire important avec constitution d'un exsudat purulent.

B. Discussion.

1° *Durée de la période pré-patente.*

Cette durée varie de 1 à 14 jours en fonction de la quan-

tité d'hématozoaires inoculés, du stade de la maladie auquel ils ont été prélevés et aussi de la voie d'introduction. Cette période pré-patente peut même manquer quand l'inoculation est intracardiaque.

2° *La numération du nombre des hématozoaires injectés.*

a) Cette numération du nombre des hématozoaires injectés a rendu de grands services dans le cas du paludisme des oiseaux depuis que Et. et Ed. Sergent (68), Boyd (4), Demidowa (13), Héwit (35), Freund (28), y ont eu recours. Elle se révèle aussi très précieuse pour l'étude du paludisme des rongeurs puisqu'elle nous a permis, même en tenant compte des marges d'erreurs dues à la dilution (erreurs que nous estimons pouvoir atteindre, pour les doses faibles, 50 %), d'apporter une plus grande précision dans ces recherches.

b) Cette technique nous a permis de constater avec certitude que la durée de la période pré-patente est fonction du nombre de parasites inoculés. De même Boyd, en 1925, et Demidowa, en 1934, ont observé des faits identiques dans l'infection d'oiseaux avec *P. relictum*.

La numération donne aussi des renseignements sur le degré de sensibilité d'une espèce à un parasite. Nous avons ainsi observé qu'une centaine d'hématozoaires (ce qui correspond à 1/100.000e de mm^3 de sang d'animal infecté) suffit à transmettre la maladie. C'est là la dose infectante minima que nous ayons notée.

A titre de comparaison rappelons que Et. et Ed. Sergent ont infecté des canaris avec des quantités allant de 1.000 à 10.000 hématozoaires, que Boyd, dans la même affection, a eu quelques échecs en injectant 10.000 à 1.000 hématozoaires, mais a échoué avec 100 hématozoaires, que Demidowa avec un très faible nombre de parasites a eu quelques succès, mais une très forte proportion d'échecs ; il aurait toutefois réussi à infecter un oiseau avec un seul hématozoaire. Rappelons que dans le cas du paludisme de la souris à *Plasmodium berghei* nous avons, avec G. Fabiani, R. Vargues, G. Fulchiron et Mme A. Verain, obtenu des résultats comparables à ceux que nous avons obtenu chez le rat, mais que nous

n'avons pas pu infecter de souris avec une seule hématie parasitée prélevée avec le micromanipulateur de Fonbrune (23).

3° *Les échecs de l'inoculation.*

Si la dose injectée atteint 10.000 *Plasmodium*, l'inoculation est pratiquement toujours positive quand on utilise la voie intrapéritonéale. Cependant tous les auteurs ont signalé des échecs rares, mais certains. Sur 155 rats nous avons eu 2 échecs. Ces animaux ont normalement répondu à une nouvelle inoculation faite un mois après la première ; ils n'étaient donc pas réfractaires à l'hématozoaire et, puisque les animaux du même lot ont présenté une infection normale, l'inoculat ne peut être accusé. Il est donc possible que l'explication ne se trouve ni dans l'inoculat, ni dans l'animal récepteur, mais plutôt dans l'acte même de l'inoculation. L'inoculation a dû être faite soit dans le tissu cellulaire sous-cutané (qui ne permet pas l'infection du rat), soit dans une anse intestinale ; il s'agirait donc d'une faute de technique.

II. Signification de la période pré-patente

A. Hypotheses.

Quelle signification accorder à cette période qui suit l'inoculation et pendant laquelle les hématozoaires ne sont pas décelés par l'examen du sang ? Plusieurs hypothèses peuvent être évoquées :

1° La période de pré-patence représente-t-elle une *phase de latence,* comparable à cette phase des cultures microbiennes pendant laquelle le nombre des bactéries reste constant ou bien est-ce une période pendant laquelle s'effectue la multiplication des hématozoaires qui sont d'abord trop peu nombreux pour être vus sur un frottis de sang ?

J. Schneider et C. Schneider (62), Galliard et Lapierre (32) ont déjà discuté cette hypothèse dans le cas de l'infection de la souris et ont affirmé qu'il n'y a pas de phase de latence. Les premiers auteurs en particulier ont montré que le sang

d'un animal inoculé avec des doses élevées de parasites (probablement de l'ordre de 10.000.000) se montre infectant dès la dixième minute qui suit l'inoculation. Et il n'est pas rare après injection d'une grande quantité d'hématozoaires par voie intrapéritonéale ou inracérébrale, de constater la présence de globules rouges parasités dans le sang circulant le lendemain même de l'inoculation. Il semble que, dans ces cas, les hématozoaires aient poursuivi d'emblée leur croissance et leur multiplication dans l'organisme nouveau sans présenter de temps d'adaptation, de phase de latence.

2° La période pré-patente serait-elle une véritable *période d'incubation* correspondant à une phase tissulaire pendant laquelle les *Plasmodium* inoculés se multiplient dans les cellules fixes ? Cette hypothèse d'une phase pré-erythrocytaire (quoique non consécutive à une inoculation de sporozoïtes) est suggérée par les observations de Van den Berghe, Vincke et Chardome (2). Ces parasitologues ont signalé tout au début de l'infection expérimentale un stade tissulaire de *Plasmodium berghei*, formes de schizogonie dans les cellules histiocytaires du foie, formes qui ont été retrouvées dans le poumon par Ed. Sergent et Mme Poncet.

Comme nous n'avons observé, et encore sans avoir la certitude, qu'une seule fois une image rappelant la schizogonie réticulo-endotheliale des auteurs belges, comme d'autre part, si les ingénieuses expériences de Schneider démontrent surtout le passage très précoce dans la circulation générale des parasites inoculés dans le péritoine, on sait par les expériences de Mc. Kee et Stewart que ce passage peut se poursuivre pendant plusieurs jours et pourrait faire croire, à tort, à une absence de phase de latence, nous avons essayé de résoudre ce problème par un autre mode d'expérimentation : les *injections de quantités massives d'hématozoaires*, proposées par G. Fabiani et R. Vargues.

B. Expériences.

1° *Inoculation intracardiaque massive* (R. Vargues et G. Fabiani (80).

Des rats ont été inoculés avec un nombre considérable de parasites par voie intracardiaque pour que les hémato-

zoaires, passant immédiatement dans la circulation, soient tout de suite décelables au microscope et que leur nombre puisse être ensuite régulièrement apprécié. Compte tenu de la masse sanguine du rat normal (6,87 %) et du chiffre normal d'hématies (9.000.000 par mm^3) il est nécessaire d'inoculer 5.000.000 de globules rouges parasités sous un volume de 1 cc. à un rat de 150 à 200 grammes pour obtenir, par simple dilution du sang ainsi inoculé, une proportion approximative d'une hématie parasitée pour 10.000 du rat normal : cette proportion permet de découvrir les hématozoaires au microscope. On supprime ainsi le temps de pré-patence qui correspond au nombre de jours nécesaires aux hématozoaires pour atteindre ce seuil de 5.000.000 (pour la masse sanguine totale du rat).

TECHNIQUE DE L'INOCULATION.

a) *Choix du sang parasité destiné à l'inoculation.* Ce point de technique est important, comme nous le verrons par la suite. On choisit un rat à l'acmé de son infection, alors que 50 % des globules rouges sont parasités. Ces hématies parasitées sont de grande taille, polychromatophiles, colorées en violet clair par le Giemsa et contiennent plusieurs hématozoaires. L'animal est saigné à blanc, le sang est recueilli dans un volume double d'eau citratée à 2 %. Une numération avec la cellule de Malassez permet de compter le nombre de globules rouges et, par suite, de déterminer le nombre des globules rouges parasités contenus dans 1 cm^3 de la dilution.

b) *Inoculation.* Elle est aisée à réaliser. (les échecs sont de l'ordre de 10 % seulement). Il faut avoir soin de choisir une aiguille de 5/10^e de mm. de diamètre, et de 2 cm. de longueur. La ponction est faite juxta-sternale, un peu au-dessus de l'appendice xyphoïde. Quand on s'est assuré, par aspiration du piston, qu'on se trouve bien dans l'une des cavités du cœur, la dilution du sang parasité est refoulée lentement, en réaspirant de temps à autre pour contrôler que l'on n'a pas quitté la cavité cardiaque. On injecte ainsi 1/2 à 1 cm^3 de sang citraté.

c) *Examen du sang périphérique.* Trois minutes après l'injection, un examen de sang prélevé à la queue de l'animal permet de constater si l'inoculation a réussi.

Résultats.

Huit rats neufs ont été inoculés selon cette technique. Nous n'en citerons qu'un en détail, car les sept autres se sont comportés de façon identique.

Ce rat 125 reçoit dans le cœur droit 1 cc. de sang citraté contenant 1.000.000.000 de *Plasmodium* (le sang de l'animal « donneur » contenant 50 % d'hématies parasitées). Trois minutes après l'injection, un frottis de sang prélevé à la queue montre un parasite pour 500 globules rouges. La lame de sang est caractéristique : les hématies du « receveur » sont normales, de teinte rosée, avec de rares globules polychromatophiles ; dans ce sang normal, tous les 2 ou 3 champs on trouve une hématie du « donneur », polychromatophile, volumineuse et multiparasitée. Dix minutes après l'inoculation le taux des globules parasités tombe à 1/1.000. Une heure après, il est de 1/3.000. Ce taux diminue légèrement encore dans les heures qui suivent. A partir de la seizième heure apparaisent des trophozoïtes jeunes dans les globules rouges acidophiles de taille normale. Il s'agit donc de globules rouges du « receveur » qui ont été infectés par des mérozoïtes. A la vingt-quatrième heure toutes les hématies multiparasitées polychromatophiles ont disparu du sang périphérique et on constate que 1 % des globules rouges acidophiles sont parasités. Par la suite l'infection va se développer comme une infection normale, la maladie évoluant ou non vers la guérison comme après toute autre inoculation.

Au cours de cette première génération dans l'organisme de l'animal « receveur », on n'assiste pas généralement à la formation de rosaces dans le sang périphérique. Celles-ci se forment dans les organes profonds, la rate et le foie en particulier, ainsi que des autopsies faites au bout de 24 heures nous l'ont montré. Ces rosaces peuvent aussi se former dans le caillot qui résulte parfois de l'inoculation. Par exemple, le rat 124 a été inoculé avec un sang ne contenant que des trophozoïtes et dépourvu de rosaces et l'inoculation a déterminé un hémopéricarde. A la dix-huitième heure, l'animal est sacrifié : on trouve des rosaces dans le poumon, le foie et la rate, mais aussi, et en grande quantité, dan le caillot péricardique.

Dans aucun cas nous n'avons observé de formes tissulaires semblables à celles décrites par Van den Berghe, Vincke et Chardome (2).

Conclusions.

Des expériences de primo-inoculation de *Plasmodium berghei* par voie intracardiaque, on peut déduire que :

a) La voie intracardiaque supprime la période prépatente. On assiste d'emblée au passage de la génération des parasites inoculés à la première génération de ces parasites dans les globules rouges du « receveur ».

b) Les globules rouges parasités introduits dans le sang de l'animal neuf disparaissent progressivement du sang périphérique.

c) La schizogonie se produit surtout dans les organes profonds et se fait directement à partir des trophozoïtes inoculés sans passage par un stade pré-erythrocytaire.

d) La durée du cycle complet ne peut être exactement déterminée par cette technique puisque les trophozoïtes inoculés sont d'âge varié. Cependant, il apparaît que ce cycle a une durée inférieure à 24 heures.

2° *Inoculation intrapéritonéale massive.*

L'intérêt des résultats acquis par les épreuves d'inoculation intracardiaque massive a incité G. Fabiani et R. Vargues (25) à rechercher, en pratiquant des examens de sang très rapprochés, l'évolution de l'infection après injection intrapéritonéale d'une quantité très importante d'hématozoaires (plusieurs centaines de millions) chez les rats neufs.

Quatre rats neufs ont reçu, dans le péritoine, 500 à 800 millions d'hématies parasitées. Les résultats ont été pratiquement identiques chez ces animaux et les courbes de parasitémie comparables.

Les hématies polychromatophiles, de grande taille, multiparasitées du « donneur », apparaissent dans le sang circulant après une heure, parfois après un quart d'heure. On en trouve alors 1, 2, 10 pour 10.000 hématies normales (jusqu'à 1 ou 2 pour 1.000 hématies) puis leur nombre décroît, devient très faible à la vingt-quatrième heure et elles disparaissent ensuite définitivement.

Dès la troisième heure (dans un cas même, dès la pre-

mière heure) ,apparaissent des trophozoïtes jeunes dans des globules rouges acidophiles de petite taille, appartenant donc à l'animal « receveur ». Leur proportion est alors très faible (de 3 à 10 pour 1.000 hématies), mais augmente progressivement pour atteindre 2 pour 100 à la vingt-quatrième heure. L'infection suit alors son évolution habituelle.

C. Discussion.

Cette étude confirme donc les conclusions de J. Schneider et C. Schneider sur l'absence de phase de latence. Elle montre aussi que les formes tissulaires de Van den Berghe et de ses collaborateurs ne sont pas un stade obligatoire de l'infection expérimentale des rongeurs ; il peut être séduisant de les interpréter comme un souvenir de l'évolution du *Plasmodium* dans sa transmission naturelle. Les différences de durée de la période pré-patente comportent alors une explication satisfaisante. En effet, pour être mis en évidence sur un frottis dans un examen de routine, les parasites doivent se trouver dans le sang à une densité suffisante et comme les hématozoaires se multiplient suivant une progression géométrique, le temps nécessaire pour que cette densité soit atteinte sera d'autant plus court que le nombre des hématozoaires initiaux sera plus élevé.

Admettons que 5.000.000 de globules rouges parasités soit le chiffre nécessaire pour déceler la présence d'hématozoaires dans le sang ; que le nombre moyen des mérozoïtes par rosace soit 15 ; que 22 heures soit la durée du cycle de l'hématozoaire et que 66 % soit le pourcentage de mérozoïtes détruits par les facteurs d'immunité naturelle (par analogie avec ce que Taliaferro a démontré pour d'autres *plasmodium*).

Dans la formule de la progression géométrique : $I = a.q^{n-1}$ nous avons ici :

$I = 5.000.000$, $q = 5$, $a =$ nombre d'hématozoaires au départ, $n =$ nombre de fois 22 heures.

Cela nous donne : pour $a = 1$, une période pré-patente de près de 10 jours ; pour $a = 500.000$, une période prépatente de 2 jours environ.

Ces chiffres ne sont pas absolus ; du moins ce calcul a-t-il l'avantage de mieux suggérer à l'esprit ce que peut être

l'augmentation du nombre des parasites pendant la période de pré-patence.

III. Influence de la durée de la période pré-patente sur l'évolution de la maladie

La durée de la période pré-patente étant ainsi étudiée et comprise, il nous reste à indiquer rapidement les conséquences de cette durée sur l'affection elle-même.

La durée de la période de pré-patence influe peu sur l'allure de la maladie. Il n'est pas possible, ni en changeant les doses, ni en variant la voie d'introduction, d'obtenir à volonté une maladie bénigne ou grave.

Rappelons que Et. et Ed. Sergent ont montré que dans le cas du paludisme des canaris à *Plasmodium relictum*, l'intensité de l'infection n'est pas fonction dn nombre des parasites inoculés (68). Par contre, toujours avec *Plasmodium relictum*, Demidowa a constaté un rapport défini entre le nombre d'hématozoaires injectés et d'une part la longueur de la période pré-patente et d'autre part l'intensité de l'infection.

Ainsi apparaît un des caractères particuliers du paludisme : alors que les maladies conférant une immunité vraie sont d'autant plus bénignes que l'incubation est plus longue, car pendant la durée d'incubation des mécanismes immunitaires commencent à entrer en action, le paludisme au contraire, maladie à prémunition, ne procède pas par des mécanismes semblables.

CHAPITRE 4

PARASITOLOGIE

I. Historique — Descriptions initiales

1° La première description morphologique du *Plasmodium berghei* a été faite par I.H. Vincke et M. Lips dans la note princeps, où ils faisaient part de leur découverte de cet hématozoaire :

« Dans les globules rouges, les trophozoïdes jeunes se présentent sous forme annulaire avec une vacuole relativement grande (jusqu'à 3,5 μ). Le point chromatique est le plus souvent unique, mais il se rencontre des anneaux à deux points chromatiques, généralement de même dimension. Lorsque le parasite grandit, on peut distinguer dans le cytoplasme des grains très fins, d'un pigment noir. La forme du *Plasmodium* est peu amoëboide en général. Le globule rouge parasité est fortement hypertrophié et ne montre pas de granulations.

« *La schizogonie* donne lieu, le plus souvent, à 8, 10 et 14 mérozoïtes, les blocs chromatiniens en sont petits et la masse de pigment noir conglomérée au centre de la rosace est, elle aussi, de petite dimension. Exceptionnellement, on rencontre des schizogonies à 6 et d'autres à 20 mérozoïtes.

« *Le polyparasitisme* d'un même globule est fréquent. On rencontre des erythrocytes envahis par 4 et même 6 parasites. Lorsque ceux-ci grandissent dans les globules hypertrophiés, leurs masses cytoplasmiques se rejoignent, leurs limites ne sont plus visibles. Ne pouvant plus s'étaler, le cytoplasme se condense et prend une teinte bleue intense. Il se constitue ainsi des masses bleues qui atteignent jusqu'à 10,6 μ de dia-

mètre, parsemées de grains chromatiques souvent nombreux. Les parasites d'âge différent y évoluent séparément, certains pouvant être en schizogonie à côté d'autres non encore en division. Dans ces masses bleues qui peuvent donner l'illusion d'une confluence, on ne distingue, en général, pas de pigment.

« Un autre fait particulier du parasite, c'est qu'en dehors des globules, on rencontre souvent, même en début d'infection, des masses bleues à plusieurs grains chromatiques. Nous les considérons provisoirement comme sorties de globules devenus fragiles et détruits par les frottis.

« Dans les infections intenses, il n'est pas rare de trouver de jeunes formes ayant envahi le cytoplasme bleu des globules rouges nucléés.

« *Les gamétocytes,* tant les formes mâles que femelles, au cours de leur croissance gardent leur vacuole. Celle-ci se retrouve au voisinage du noyau et peut atteindre 2,6 μ chez le macrogamétocyte et plus chez le microgamétocyte. Un pigment noir très fin et discret est disséminé dans le protoplasme du macrogamétocyte dont le noyau est typiquement périphérique et petit. Celui des microgamétocytes est notablement plus grand à chromatine moins dense.

« Les mensurations de quelques gamétocytes adultes nous ont donné 7 à 8 μ alors que le diamètre des globules rouges parasités hypertrophiés varie de 7,98 à 9,3 μ. Les masses bleues de parasites évoluant conglomérées dans un même globule peuvent atteindre 10,6 μ.

« Notons que le diamètre des globules rouges normaux de rats parasités varie de 5 à 6,5 μ » (82).

2° Deux ans plus tard, le 31 mars 1950, L. Van den Berghe, I.H. Vincke et M. Chardome affirmaient *l'existence d'une phase tissulaire* de *Plasmodium berghei* chez la souris.

« Chez la souris, la démonstration d'une phase tissulaire avec formes de schizogonie dans les cellules histocytaires du foie a pu être faite dès la trente-sixième heure suivant l'inoculation. A ce stade, le sang ne présente aucun parasite, les premières formes n'apparaissent dans la circulation qu'après 48 heures environ (la schizogonie dans le sang s'effectue probablement suivant un rythme de 22 heures). Les schizogonies

tissulaires se distinguent des schizogonies sanguines par un nombre souvent plus élevé de mérozoïtes. Il atteint parfois la trentaine alors que dans le sang périphérique, le chiffre dépasse rarement la vingtaine.

« Les mérozoïtes de forme tissulaire sont un peu plus grands et le cytoplasme de schizogonie paraît plus basophile aussi.

« Il serait plus adéquat, dans le cas du *Plasmodium berghei*, et peut-être de la plupart des *Plasmodium*, de considérer deux phases : la phase réticulo-endothéliale et la phase sanguine. La première précédant de quelques heures la deuxième, toutes deux devenant concomitantes ensuite ».

« La phase réticulo-endothéliale, moins exposée sans doute à l'action des moyens thérapeutiques ainsi qu'à celle des substances d'immunité du plasma, serait responsable des rechutes et des accès pernicieux, aussi bien que de l'entretien de l'immunité » (2).

3° H. Galliard, en octobre 1949, à la « Société de Pathologie exotique », signalait :

— Chez la souris : l'importance de l'infection qui « peut atteindre 45 % d'hématies parasitées le quinzième jour », ainsi que la multiplicité des formes extraglobulaires dues à la destruction intense des hématies qui se produit, même quand le parasite est au stade début ; la difficulté que l'on a à voir le pigment dans les parasites du sang périphérique (alors qu'il est bien visible dans les frottis de rate où les rosaces présentent l'amas caractéristique) ; le grand nombre de macrophages mélanifères ; la préférence du parasite pour les celules jeunes (hématies nucléées et polychromatophiles).

— Chez le rat, il indiquait que : les parasites sont plus volumineux ; l'infection moins intense ; les formes extraglobulaires et les formes de division moins fréquentes.

Il notait aussi : la prédominance de l'infection des cellules jeunes encore plus marquée ; le polyparasitisme des hématies nucléées ; la plus grande sévérité de l'infection chez le rat splénectomisé (29).

II. Travaux personnels

1° *LES DIFFERENTES PHASES DE L'INFECTION.*

Nous allons maintenant essayer de suivre les modifications présentées par les hématozoaires au cours de l'infection sanguine patente. Cette infection comprend différentes phases qui correspondent, non seulement à des variations du nombre des *Plasmodium,* mais aussi à des aspects morphologiques différents de la préparation microscopique.

Nous distinguerons quatre stades dans la période patente de l'infection du rat :

1° *Période de début :* apparition des hématozoaires dans le sang.

2° *Période d'état :* présence de nombreux trophozoïtes et de schizontes : les rosaces contiennent un grand nombre de mérozoïtes.

3° *Période critique :* parasitisme intense des hématies polychromatophiles ; « formes de souffrance » des hématozoaires ; les rosaces ne contiennent qu'un petit nombre de mérozoïtes. L'évolution est alors très rapide : l'animal meurt ou, si la guérison doit survenir, apparition de la quatrième période.

4° *Période de déclin :* les hématozoaires diminuent de nombre très rapidement.

Nous décrirons, par exemple, une forme d'infection intense, mais guérie spontanément (rat 7 dont 70 % des globules rouges ont été infectés) :

Rat 7	2/12/50	4	6	7	8	11	13	15	18	21	23	26	
	I.D.	0	0	+	3 %	10 %	20 %	70 %	+	0	0	0	

Précisons que la description que nous allons faire ne correspondra pas à tous les types d'infection, mais restera valable dans son ensemble. L'évolution de l'infection dépendra, en effet, de la résistance de l'animal à l'anémie et de l'efficacité des moyens de défense mis en jeu par son organisme. Certains rats mourront d'une infection faible (3 % de leurs hématies parasitées) tandis que d'autres présenteront des formes de souffrance dès ce stade et guériront facilement. D'autres enfin, succomberont à une infection très intense ou, au contraire, en guériront comme le rat que nous avons choisi en exemple.

2° *MODIFICATIONS QUALITATIVES.*

A — Période de début

C'est celle où l'on voit apparaître des *Plasmodium* peu nombreux, dans des hématies éosinophiles : le 7 décembre dans notre exemple. Ces hématies éosinophiles ne sont pas augmentées de volume, en général.

On y trouve surtout des trophozoïtes :

— trophozoïtes jeunes, constitués d'un grain de chromatine et d'une bande étroite de protoplasme, annulaire ou piriforme, entourant une vacuole centrale ;

— trophozoïte plus âgé avec un grain de chromatine plus gros, une vacuole plus volumineuse et une masse protoplasmique plus abondante ;

— plus rarement trophozoïte adulte, énorme, constitué d'une grosse masse protoplasmique, parsemée de grains fins d'un pigment brunâtre et d'une vacuole plus petite (quelquefois inexistante). En ce cas, on note l'hypertrophie globulaire.

Ces trois types de trophozoïtes représentent la majorité des formes rencontrées en début d'infection.

D'autres aspects peuvent être observés :

— image en cocarde avec un grain de chromatine central et une zone de protoplasme annulaire avec ou sans interposition d'un cercle clair représentant la vacuole ;

— image en orange avec une grosse masse de protoplasme plus ou moins arrondie et un gros grain de chromatine excentré ;

— des images de filet à papillon, de banderole et même de bracelet arabe (chromatine divisée en deux masses plus ou moins réunies).

Les rosaces sont tout à fait exceptionnelles à ce stade. Les schizontes jeunes, ou formes en voie de division, sont par contre, plus fréquents. On voit alors dans l'hématie une masse volumineuse, en général bien limitée, constituée par du protoplasme avec ou sans pigment et de nombreuses petites masses de chromatine bien distinctes, en forme de copeaux irréguliers.

Le poly-parasitisme est chose fréquente, même en début d'infection et il n'est pas rare, non plus, de rencontrer des hématozoaires d'âge différent dans le même globule : un trophozoïte jeune coexistant avec un autre beaucoup plus gros, voire même avec un schizonte.

Dès l'observation de ces premières formes, on voit que le cycle n'est pas régulier et que plusieurs cycles sont intriqués. On peut se demander si les hématozoaires les plus petits sont les derniers ayant pénétré dans le globule rouge ou si au contraire ils diffèrent des plus volumineux par un retard dans leur évolution.

B — Période d'état.

Dans notre exemple, c'est celle qui s'étend du 2e au 6e jour de la maladie. Ce 6e jour, l'infection atteint 20 % du chiffre total des hématies.

Cette période est caractérisée par une augmentation importante du nombre des hématies parasitées, par l'apparition d'hématies polychromatophiles en grand nombre et par un polyparasitisme plus intense. Presque toutes les hématies parasitées sont polychromatophiles. Leur diamètre déjà double de celui d'une hématie acidophile est encore accru par suite de l'hypertrophie due au développement parasitaire. Elles contiennent 4, 5 ou même 6 hématozoaires d'âge différent dont les limites protoplasmiques sont peu

nettes. Les rosaces sont moins rares. Elles n'ont pas, en général, la forme d'une marguerite avec les mérozoïtes bien rangés à la périphérie et le pigment rassemblé au centre. Le plus souvent, l'amas de pigment est excentré et les mérozoïtes ont une disposition irrégulière. Ils sont allongés, en forme de navette et sont constitués par une quantité égale de protoplasme et de chromatine. Leur nombre varie de 18 à 30.

C'est vers la fin de cette seconde période que l'on se rend compte qu'un processus humoral est en jeu pour lutter contre les parasites. Quelques formes de souffrance sont nettement visibles : dans certains globules, les trophozoïtes, au lieu d'avoir un aspect normal (avec coloration uniforme et nette de leur protoplasme et limites précises), ont un protoplasme dont les limites s'estompent et qui se distingue mal du stroma globulaire comme s'il y avait une lyse endoglobulaire des hématozoaires.

C — Période de crise.

A cette période, le parasitisme est intense. Le rat choisi en exemple est au 9e jour de sa maladie. 70 % de ses hématies sont parasitées : presque toutes sont polychromatophiles. On note aussi la présence d'érythroblastes dont certains ont le protoplasme parasité par un ou même plusieurs hématozoaires. Le polyparasitisme est aussi plus important qu'à la période précédente : on compte 6, 7 et même 8 hématozoaires dans de nombreux globules.

Mais surtout, ce qui caractérise cette période, c'est la présence de nombreux hématozoaires altérés, formes de souffrance identiques aux « crisis forms » déjà décrites par W.-H. et L.-G. Taliaferro dans l'infection du singe panaméen par *Plasmodium brasilianum*. Bien souvent, dans les hématies polychromatophiles, il est difficile de distinguer les limites du protoplasme des hématozoaires. Certains même ne sont plus représentés que par leur chromatine entourée d'une auréole claire avec quelques taches plus foncées, vestiges du protoplasme disparu.

On voit aussi un grand nombre de schizontes et beaucoup de rosaces, mais qui ne sont plus constituées que par 6 à 12 mérozoïtes.

A cette époque critique, l'évolution s'accélère. L'animal meurt, ou si au contraire les réactions de défense sont suffisantes, la guérison survient rapidement.

Chez ces rats qui guérissent, on peut alors décrire une quatrième période : la période de déclin.

D — Période de déclin.

On ne peut se tromper alors, et sur le vu d'une lame, même si on ignore l'évolution antérieure de l'infection, on peut affirmer qu'il y aura très rapidement disparition des hématozoaires : en général en 48 heures, ou plus progressivement en quelques jours. La proportion d'hématies parasitées qui la veille était de 70 % n'est plus que de 10 ou même 5 % ; il s'agit surtout de trophozoïtes altérés et de quelques schizontes.

Le surlendemain, on ne voit plus que de rares schizontes et quelques formes de souffrance. Puis tout disparaît.

Fait paradoxal : il n'est pas rare de voir les jours suivants, quelques hématozoaires isolés, parfaitement constitués, à l'intérieur d'hématies éosinophiles ; ils finissent par disparaître, à leur tour, en quelques jours.

3° *DETERMINATION QUANTITATIVE DE L'INTENSITE L'INFECTION.*

A — Méthodes

Pour apprécier l'intensité de l'infection et en suivre l'évolution dans le temps, il faut dans la mesure du possible, chiffrer les résultats acquis et ne pas se contenter d'un simple qualificatif résumant l'impression de l'observateur.

Plusieurs *méthodes* sont à notre disposition :

1) *Détermination du nombre absolu des hématozaires par mm³ de sang.*

C'est la méthode la plus sûre, celle qui a permis à Taliaferro et à Freund, d'établir de belles courbes d'infection (28 ; 71).

On compte le nombre de globule rouges par *mm³* de sang, le nombre d'hématozoaires pour 100 globules rouges, et on détermine ainsi le nombre absolu d'hématozoaires par *mm³*. Mais cette méthode est longue et péni-

ble. De plus, elle se heurte dans le cas de l'infection expérimentale du rat à une très grande difficulté due à l'intrication des cycles des hématozoaires présents dans le sang et au polyparasitisme des hématies. Il en résulte que le nombre des hématozoaires présents dans 100 globules rouges varie au cours d'une même journée dans des proportions importantes et le calcul statistique des erreurs montre qu'ils n'est pas possible d'obtenir avec une grande précision le chiffre des parasites contenus dans un mm^3 de sang. Nous reviendrons sur cette notion un peu plus loin et nous nous bornerons donc à indiquer à titre indicatif quelques chiffres obtenus.

2) *Détermination du nombre des hématies parasitées par millimètre cube de sang.*

On compte le nombre de globules rouges par mm^3 de sang, le nombre d'hématies parasitées pour 100 globules rouges et on obtient ainsi le nombre de globules rouges parasités par mm^3. Cette méthode fournit des renseignements très précieux sur l'importance du parasitisme sanguin, l'évolution de l'infection et permet d'établir des courbes très précises. Mais elle demande beaucoup de temps et n'est pas indispensable pour l'examen de routine.

3) *Détermination du nombre relatif des hématies parasitées.* (par rapport à 100 globules rouges).

C'est une méthode pratique et rapide (examen d'un simple frottis), mais qui exige quelques précautions : il faut une répartition assez homogène des globules rouges parasités. Se rappeler qu'en queue d'étalement, il y a toujours un plus grand nombre de globules rouges polychromatophiles hypertrophiés.

Surtout cette technique est passible d'une grave critique : c'est que le nombre des *Plasmodium* n'est déterminé que par rapport au nombre des globules rouges. Or, ce nombre de globules rouges est variable et baisse beaucoup au maximum de l'infection. La courbe « relative » ainsi obtenue donne une idée atténuée de l'infection parasitaire.

Mais, cependant, cette technique par sa simplicité, par la netteté des résultats qu'on obtient, est suffisante dans la pratique pour juger de l'évolution et de l'importance de l'infection. L'établissement et la comparaison des courbes d'infection « relative » sont aisées et, répétons le, on a ainsi une approximation suffisante.

4) *Détermination du nombre d'hématozoaires par champ microscopique.*

Cette méthode présente les mêmes inconvénients que la précédente mais, de plus, à celui d'introduire une inconnue supplémentaire, selon la réalisation de l'étalement. On constate, en effet, que, quand le sang est très anémique, même avec une vitesse et une inclinaison identiques de la lamelle pour la confection du frottis, le nombre de globules rouges par champ microcopique diminue beaucoup et la répartition des hématies est très inégale.

B — Résultats.

Nous étudierons successivement :

1) les variations du nombre absolu des hématies parasitées en cours d'infection ;

2) la proportion des différentes formes d'hématozoaires en cours d'infection, pour essayer de déterminer la durée du cycle évolutif des hématozoaires ;

3) les variations du polyparasitisme des hématozoaires, pour essayer de déterminer ;

4) le nombre absolu des parasites par mm^3 de sang.

1 — *Variation du nombre absolu des hématies parasitées en cours d'infection.*

Nous avons pour 7 rats, étudié de façon précise, le nombre absolu d'hématies parasitées par mm^3 de sang.

Nous rapportons ici les chiffres obtenus :

Rat 19 : Inoculé I.P., le 2/1/51

	G.R. par mm³	%	G.R.P. par mm³	G.R.P. pour 10.000 G.R.
10/ 1/51	6.000.000	6 %	360.000	600
12	2.800.000	23 %	644.000	2.300
14	2.000.000	28 %	560.000	2.800
16	2.000.000	40 %	800.000	4.000
18	1.700.000	65 %	1.105.000	6.500
19	θ			

Rat 21 : Inoculé I.P., le 2/1/51

	G.R. par mm³	%	G.R.P. par mm³	G.R.P. pour 10.000 G.R.
9/ 1/51	6.000.000	1 %	60.000	100
10	4.800.000	2 %	96.000	200
12	3.500.000	11 %	385.000	1.100
14	2.000.000	18 %	360.000	1.800
16	1.600.000	45 %	720.000	4.500
18	1.600.000	65 %	1.040.000	6.500
20	θ			

Rat 22 : Inoculé I.P., le 16/2/51

	G.R. par mm³	%	G.R.P. par mm³	G.R.P. pour 10.000 G.R.
20/ 2/51	8.000.000	2 %	160.000	200
22	7.200.000	4 %	288.000	400
24	5.200.000	8 %	416.000	800
26	4.800.000	2 %	96.000	200
28	2.120.000	0,5 %	10.600	50
2/ 3/51	2.560.000	0 %	0	0
5	4.480.000	0 %	0	0

Rat 27 : Inoculé I.P., le 16/2/51

	G.R. par mm³	%	G.R.P. par mm³	G.R.P. pour 10.000 G.R.
20/ 2/51	8.000.000	1 %	80.000	100
22	7.400.000	4 %	296.000	400
24	5.920.000	10 %	592.000	1.000
26	3.200.000	20 %	640.000	2.000
28	3.040.000	10 %	304.000	1.000
2/ 3/51	4.800.000	0,5 %	24.000	50
5	4.960.000	0 %	0	0

Rat 28 : Inoculé I.P., le 16/2/51

	G.R. par mm³	%	G.R.P. par mm³	G.R.P. pour 10.000 G.R.
20/ 2/51	8.320.000	2 %	166.400	200
22	7.200.000	6 %	432.000	600
24	5.280.000	10 %	528.000	1.000
26	3.400.000	5 %	170.000	500
28	3.200.000	3 %	96.000	300
2/ 3/51	4.000.000	+	+	+
5	6.400.000	0	0	0

Rat 29 : Inoculé I.P., le 23/1/51

	G.R. par mm³	%	G.R.P. par mm³	G.R.P. pour 10.000 G.R.
24/ 1/51	8.000.000	0 %	0	0
26	6.300.000	3 %	189.000	300
29	6.200.000	5 %	300.000	500
31	4.200.000	15 %	630.000	1.500
2/ 2/51	3.300.000	15 %	495.000	1.500
5	1.600.000	0	0	0
6	1.200.000	0	0	0

Rat 30 : Inoculé I.P., le 23/1/51

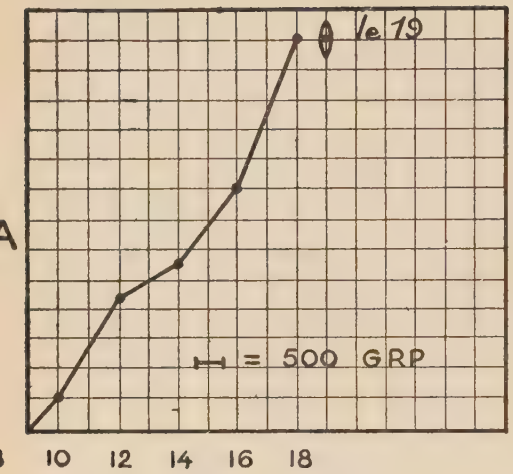
	G.R. par mm³	%	G.R.P. par mm³	G.R.P. pour 10.000 G.R.
24/ 1/51	5.600.000	0 %	0	0
26	3.500.000	5 %	175.000	500
29	2.800.000	15 %	420.000	1.500
31	2.400.000	50 %	1.200.000	5.000
2	1.600.000	80 %	1.280.000	8.000
3	θ			

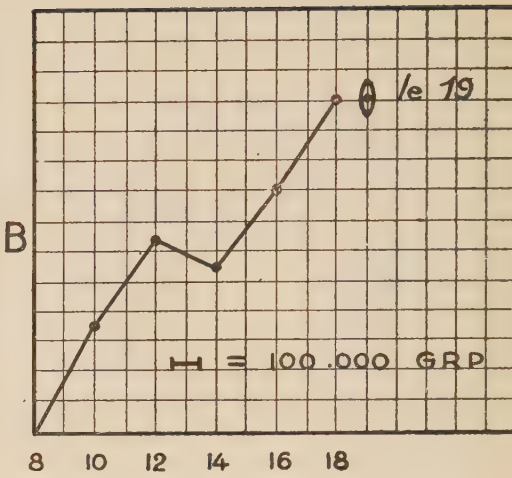
Ces chiffres nous permettent d'établir deux *courbes :*

A une première courbe représentant le nombre de globules rouges parasités pour 10.000 globules rouges ;

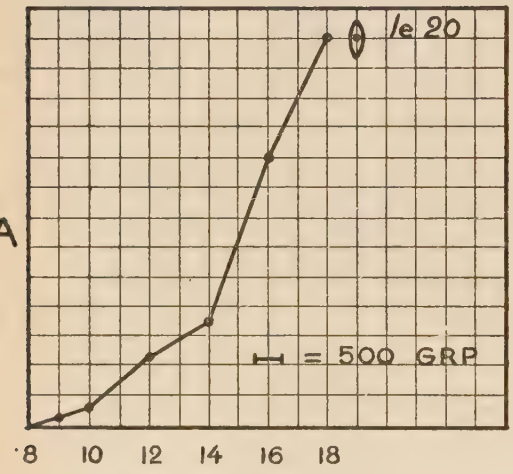
B une deuxième représentant le nombre absolu de globules rouges parasités par mm^3 de sang.

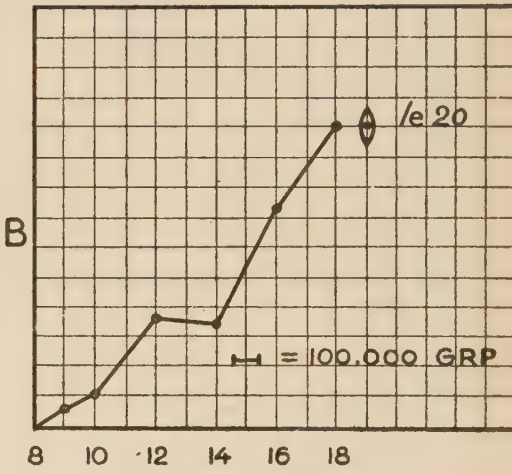
Rat 19



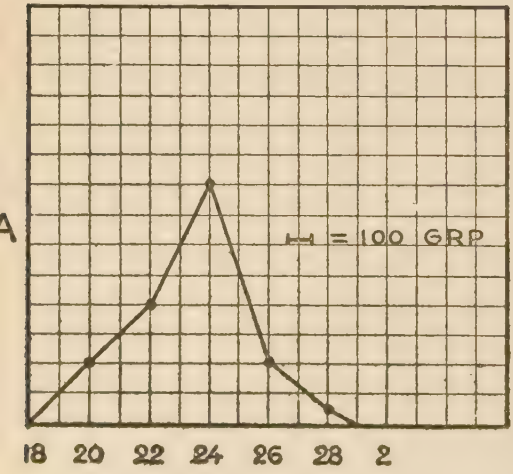


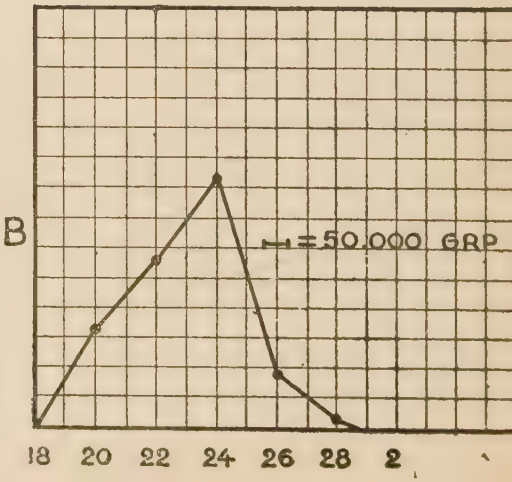
Rat 21



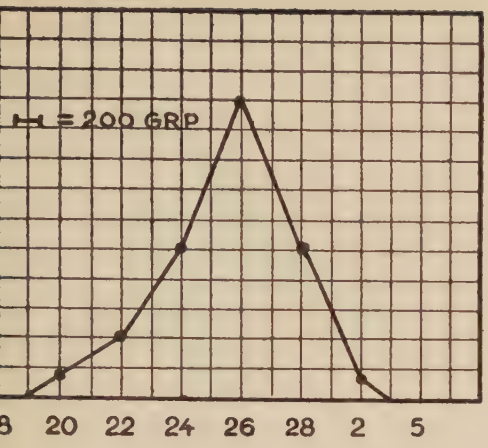


Rat 22

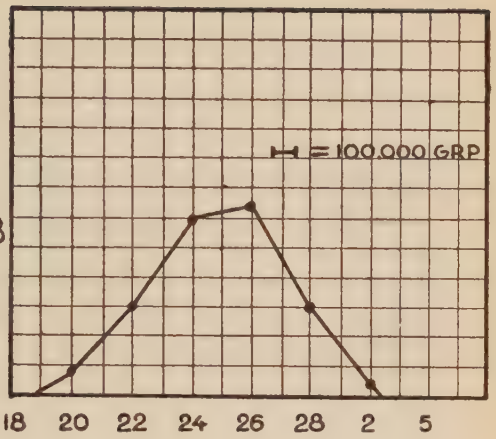




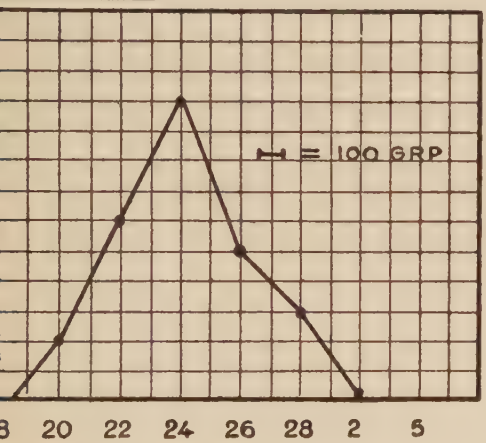
Rat 27



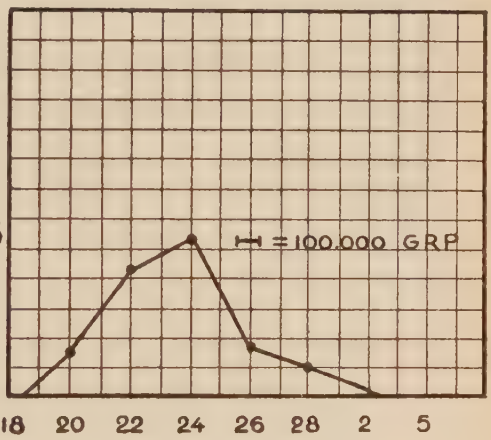
B



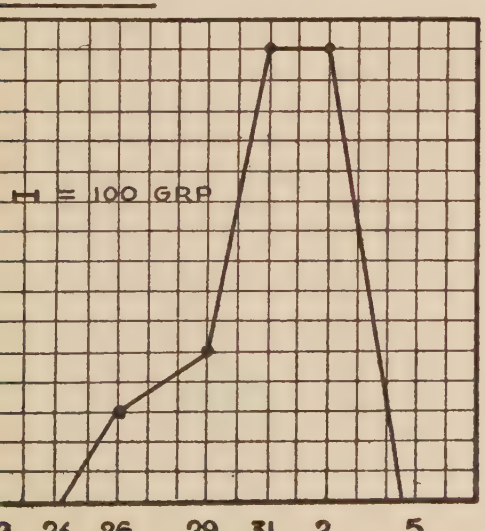
Rat 28



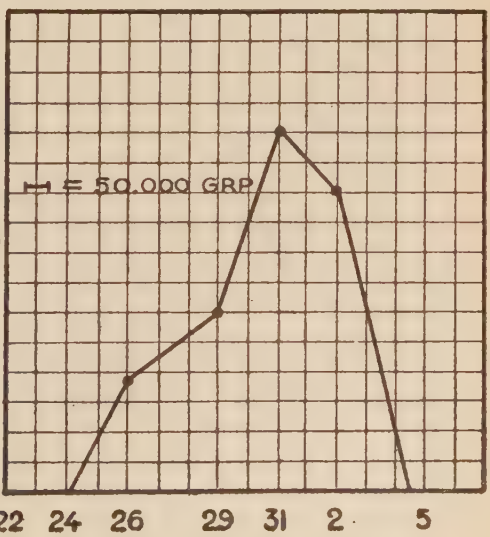
B

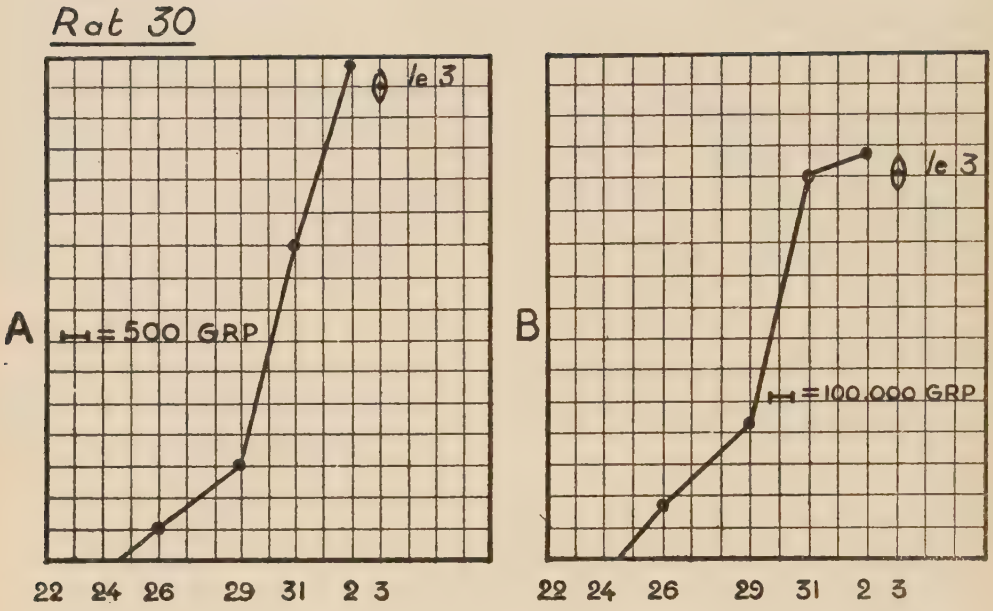


Rat 29



B





Commentaires.

La lecture de ces tableaux et graphiques suggère plusieurs remarques :

1°) La différence entre les courbes *A* et *B* résulte de la variation du nombre des globules rouges par mm^3 de sang au cours de l'infection et par conséquent, la courbe représentant le nombre relatif d'hématies parasitées ne donne qu'une idée approximative de l'intensité de l'infection sanguine. Toutefois, il n'y a pas de discordance entre les 2 courbes, ce qui justifie, comme technique de routine, la détermination plus aisée du nombre relatif des hématies parasitées, à la condition de se rappeler qu'il s'agit d'une estimation de l'infection et non d'une numération de la parasitémie.

2°) L'allure très aiguë de l'infection sanguine qui se développe très rapidement et ne dure que quelques jours. Nous y reviendrons à propos des formes évolutives.

3°) Dans les formes curables la disparition brusque ou très rapide, en 2 à 4 jours des hématozoaires présents dans le sang quand le maximum de parasitémie a été atteint (phase critique), faits comparables à ceux observés par Taliaferro dans le paludisme simien.

4°) La régularité de la courbe d'infection sanguine : le nombre des globules rouges parasités augmente régulièrement jusqu'à un maximum, puis décroit rapidement. En raison de la présence simultanée d'hématozoaires à des stades différents et de l'intrication des cycles, il n'y a jamais cette importante variation cyclique du nombre des parasites présents dans le sang comme dans les paludismes humains ou animaux où tous les hématozoaires sont au même stade. Mais il n'y a pas non plus de variations irrégulières du nombre des hématies parasitées. Les observations rapportées dans ce travail en indiquant le nombre relatif d'hématies parasitées montrent également cette même régularité de la courbe qui ne présente pas de rémission profonde ni d'aspect en « dents de scie ». Ce n'est que dans 6 cas (sur plus de 200 animaux), que nous avons pu voir une courbe ondulante de parasitémie (voir « formes évolutives atypiques »). Par conséquent, la constatation d'une proportion plus faible d'hématies parasitées, alors que l'on n'est pas arrivé à la période critique ou de déclin, doit faire penser à une erreur de technique : numération d'un nombre trop faible d'hématies, étalement défectueux.

2 — *Proportion des différentes formes d'hématozoaires (pour 100 hématozoaires) en cours d'infection.*

Chez les rats 19 et 21, nous avons essayé de trouver la durée du cycle évolutif en suivant au cours de l'infection la variation des différentes formes d'hématozoaires.

Nous dessinions simplement sur du papier sulfure, placé sur le verre dépoli d'un appareil à microphotographie, trois cents globules, dans lesquels nous notions au moyen de signes différents, toutes les formes d'hématozoaires.

Ces examens ont été faits tous les jours à la même heure. Nous rapportons ci-dessous les résultats obtenus chez ces 2 animaux.

Rat 19 Inoculé le 2/1/51 en I.P. Mort le 19/1/51

	% des Hématies parasit.	Troph. très jeunes	Troph. moyens	Troph. très gros	Schiz.	Rosaces
10/1/51	6 %	74	24	2	0	0
11	16 %	30	47	23	0	0
12	23 %	80	19	1	0	0
13	25 %	77	22	0	0	1
14	28 %	91	6	1	2	0
15	35 %	94	4	1	1	0
16	40 %	83	9	8	0	0
17	45 %	85	9	3	1	2
18	65 %	63	22	5	6	4
19	θ					

Rat 21 Inoculé le 2/1/51 en I.P. Mort le 20/1/51

	% des Hématies parasit.	Troph. très jeunes	Troph. moyens	Troph. très gros	Schiz.	Rosaces
8	+	20	55	25	0	0
9	1 %	36	45	18	1	0
10	2 %	29	52	16	3	0
12	11 %	45	29	25	1	0
13	15 %	77	14	4	3	2
14	18 %	45	39	11	1	4
15	22 %	59	21	15	3	2
16	45 %	84	11	3	0	2
17	55 %	80	12	6	2	0
18	65 %	94	5	0	0	1
19	60 %	81	11	3	0	5
20	θ					

Ces deux tableaux montrent très nettement par l'irrégularité des chiffres obtenus que l'intrication des cycles aboutit à la coexistence en un même temps de stades évolutifs très différents. Nous n'avons jamais observé dans le sang d'hématozoaires à un seul et même stade de développement. On voit constamment, même dès le début de l'infection, des hématozoaires à des stades différents, même quand il s'agit d'un réveil après splénectomie. C'est là, l'inconvénient majeur de ce paludisme artificiel du rat et c'est ce qui empêche de déterminer avec précision, la durée du cycle évolutif. En raison de l'augmentation très rapide du nombre des hématozoaires le cycle se produit sûrement en moins de 24 heures.

3 — *Variation du polyparasitisme des hématies.*

Chez les rats 19 et 21 nous avons aussi étudié les variations du polyparasitisme des hématies en cours d'infection.

a) Chez le rat 19 nous avons compté chaque fois cent hématozoaires en notant leur répartition dans les globules.

Rat 19 Inoculé I.P., le 2/1/51 Mort, le 19/1/51

Date	Nombre de globules	Nombre d'hématozoaires 1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	% de G.R.P.
10		10	8	8	4	3	2	1				6 %
11		36	19	7		1						16 %
12		1	14	9	5	2		2				23 %
13		1	3	5	5	8			1		1	25 %
14		8	20	8	4	1		1				28 %
15		9	9	10	7	3						35 %
16		4	6	12	8	2	1					40 %
17		11	15	8	5	3						45 %
18		13	13	11	7							65 %
19		0										

b) Chez le rat 21, au contraire, nous avons compté cent hématies et érythroblastes parasités et noté le nombre d'hématozoaires qu'ils contenaient.

Rat 21 Inoculé I.P., le 2/1/51 Mort, le 20/1/51

Date	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	% de G.R.P.
8	60	40	0	0	0	0	0	0	0	0	+
9	24	28	18	20	10	0	0	0	0	0	1 %
10	15	38	21	8	5	6	7	0	0	0	2 %
11											6 %
12	17	22	30	16	15	0	0	0	0	0	11 %
13	11	8	21	16	25	12	7	0	0	0	15 %
14	10	38	21	16	5	10	0	0	0	0	18 %
15	23	58	15	4	0	0	0	0	0	0	22 %
16	8	24	36	8	5	12	7	0	0	0	45 %
17	10	20	33	4	25	0	0	8	0	0	55 %
18	4	20	30	8	10	6	14	8	0	0	65 %
19	5	6	18	36	0	6	21	8	0	0	60 %
20	0										

Le nombre d'hématozoaires pour 100 globules rouges parasités est donc de :

Date	Nbre d'hématozoaires pour 100 G.R.P.
8	140
9	264 ± 26
10	296 ± 42
12	290 ± 26
13	400 ± 34
14	298 ± 28
15	200 ± 14
16	342 ± 33
17	354 ± 35
18	414 ± 40
19	462 ± 41

4 — *Ce qui nous donne le nombre absolu d'hématozoaires.*

Rat 21 Inoculé I.P., le 2/1/51

Date	G.R. par mm³	%	G.R.P. par mm³	Nombre d'hémato-zoaires par mm³	Nombre d'hemato-zoaires pour 100 G.R
8		+			140
9	6.000.000	1 %	60.000	158.400	264
10	4.800.000	2 %	96.000	284.160	296
11					
12	3.500.000	11 %	385.000	1.116.500	290
13	3.000.000	15 %	450.000	1.800.000	400
14	2.000.000	18 %	360.000	1.072.800	298
15	2.000.000	22 %	440.000	880.000	200
16	1.600.000	45 %	720.000	2.462.400	342
17	1.600.000	55 %	880.000	3.115.200	354
18	1.600.000	65 %	1.040.000	4.305.600	414
19	2.000.000	60 %	1.200.000	5.544.000	462
20	0				

Ce tableau indique le nombre absolu d'hématozoaires par *mm³* de sang et il montre, avec précision, l'augmentation du polyparisitisme des hématies à mesure que l'infection se développe.

Ce polyparisitime, qui apparaît déjà dès le début de l'infection, gène considérablement pour établir des courbes indiquant le nombre absolu d'hématozoaires par rapport à un nombre déterminé d'hématies ou à un volume connu de sang. En effet, outre le temps nécessaire, il est quelques fois difficile de déterminer exactement le nombre d'hématozoaires dans 1 globule rouge (schizontes à plusieurs noyaux, formes de crises à contours indistincts).

Enfin, il y a, dans une même journée, des variations importantes du nombre des hématozoaires (pour 100 G.R.P.), tandis que le nombre de globules rouges parasités reste relativement stable.

Nous avons, au rat 21, pris du sang de 2 heures en 2 heures le 13/1/51 et avons constaté les variations suivantes du nombre global d'hématozoaires et du pourcentage des globules rouges parasités :

Rat 21 Inoculé I.P., le 2/1/51

		Chiffre moyen d'hématozoaires pour 100 G.R.P.	% de G.R.P.
13/1/51	14 heures	411	15 %
	15 heures	400	15 %
	16 heures	379	15 %
	18 heures	355	15,5 %

Ce qui montre, qu'en raison de l'intrication des cycles et de l'éclatement des rosaces en des temps très variables, la courbe établissant le nombre de globules rouges parasités a une plus grande régularité et donne un reflet plus fidèle de l'infection que la courbe indiquant le nombre absolu d'hématozoaires par mm^3 de sang.

Remarques :

1°) *Disparition des gamétocytes.*

Nous n'avons pas observé de *gamétocytes* ni dans le sang périphérique, ni dans le sang des organes profonds. Cette disparition de la sexualité est connue au cours d'infections parasitaires entretenues par passages répétés pendant longtemps par inoculation directe de sang d'animal infecté. Ce phénomène a aussi été signalé pour des souches d'hématozoaires entretenues sur l'homme pour la malariathérapie. Il ne se produit qu'avec une rapidité variable, puisque P. Mollaret et J. Schneider constatent que la souche de *Plasmodium vivax* conservée à la Salpêtrière produit encore après une dizaine d'années de rares gamétocytes (50). Cette disparition définitive des gamétocytes a été aussi observée

dans le cas des piroplasmoses par Ed. Sergent, Parrot, Donatien et Lestoquard (65). Enfin, nous avons nous-même constaté une raréfaction puis une disparition des gamétocytes, d'une autre souche de *Plasmodium berghei,* que nous devons à l'obligeance du Docteur J. Schneider.

2°) *Infection par les puces du rat.*

Nous avons prélevé chez un rat fortement infecté 10 puces qui ont été broyées et injectées dans le péritoine d'un rat neuf. Cet animal a présenté ensuite une infection classique après 13 jours de latence.

Certes, il est vraisemblable qu'il ne s'agit là que d'un mode accidentel d'infection et rien ne prouve que les puces puissent dans les conditions naturelles transmettre la maladie. Il faut, cependant, se méfier de la possibilité d'erreurs dans l'expérimentation de laboratoire, des puces pouvant mécaniquement transmettre du sang infectant (sans qu'il y ait, bien entendu, évolution de l'hématozoaire dans l'organisme de la puce).

CHAPITRE V

HEMATOLOGIE

Chez 12 animaux nous avons suivi au cours de l'infection le nombre des globules rouges (hématies éosinophiles, hématies polychromatophiles et érythroblastes), le taux de l'hémoglobine, la résistance globulaire et les variations leucocytaires.

Difficultés et causes d'erreurs de l'examen hématologique

Il faut tout de suite souligner les difficultés que présentent ces examens chez le rat. Le prélèvement de sang nécessaire à la numération des globules rouges et à la recherche du taux de l'hémoglobine, produit rapidement, lorsque les examens sont répétés, une anémie importante. Trois de nos rats ont ainsi présenté, du seul fait des prises de sang, une chute importante du nombre de leurs globules rouges.

Rat 22		Rat 27		Rat 28	
16/1/51	7.200 000	24/1/51	8.400.000	24/1/51	7.680.000
17	7.200.000	26	7.960.000	26	7.600.000
18	7.200.000	29	5.660.000	29	6.400.000
19	7.000.000	31	5.200.000	31	5.600.000
22	6.400.000	2/2/51	4.160.000	2/2/51	4.640.000
23	5.600.000				
26	3.600.000				

En dehors de la ponction intracardiaque qui ne peut être adoptée pour des examens à intervalles si rapprochés, le sang peut être pris aux oreilles ou à la queue. La queue est certes l'endroit de choix, mais présente néanmoins de nombreux inconvénients. Il est nécessaire d'en couper, à chaque examen, au moins 1/2 cm. pour éviter la zone perturbée par les réactions inflammatoires qui accompagnent la cicatrisa-

tion. Quelques fois même en en coupant 1 cm., nous avons constaté des cellules monocytaires atypiques (cellules plasmocytaires, histiocytes) et une polynucléose que nous ne retrouvions pas à un examen fait à une oreille saine quelques minutes après. Souvent aussi lorsque nous arrivions dans la partie moyenne de la queue, la coupure provoquait une hémorragie importante (3 à 4 gouttes de sang) qu'il était difficile d'arrêter, même au moyen de collodion ou par un tampon de coton, comme nous l'avons essayé. Ces hémorragies affaiblissent l'animal, expliquent la chute si prononcée du nombre des globules rouges chez un animal non infecté et augmentent d'autant l'anémie en période d'infection.

D'autres fois, le plus souvent en période d'infection sévère, la queue ne saignait pas. Nous avons cependant renoncé à aider l'écoulement du sang par frottement ou pression, car la formule était très modifiée et nous obtenions, mélangée au sang, une sérosité qui faisait coaguler le sang recueilli dans les pipettes de dilution et rendait illisibles nos étalements. Enfin, la réaction inflammatoire qui se produit à la plaie entraîne des modifications du chiffre des leucocytes et le frottis montre des cellules inflammatoires nombreuses.

Exemples de modifications sanguines
à la suite de prélèvements répétés à la queue

Rat 163 : 22/6/1951 - 30 % des hématies parasitées.

	Queue (déjà coupée 3 fois)	Oreille saine
— Formule leucocytaire		
Monocytes	14	13
Moyens mononucléaires	2	2
Lymphocytes	68	79
Polynucléaires	12	6
Eosinophiles	1	0
Basophiles	3	0
— Globules rouges :	3.420.000	4.000.000
— Globules blancs :	8.800	8.000

Rat 201 : 27/7/1951. - 30 % des hématies parasitées.

	Queue (enflammée et infectée)	Oreille saine
— Formule leucocytaire		
Monocytes	31	9
Moyens mononucléaires	6	2
Polynucléaires	11	11
Lymphocytes	51	77
Eosinophiles	1	1
Basophiles	0	0
— Globules rouges :	2.120.000	2.600.000
— Globules blancs :	24.000	20.800

Nous avons donc varié l'endroit de nos prises de sang, queue, oreille, puis de nouveau queue et, la fois suivante, l'autre oreille, dans la mesure où le sang s'écoulait spontanément et en essayant d'exclure toute modification de la formule, tant inflammatoire que mécanique.

A. Variation du nombre des globules rouges et du taux de l'hémoglobine.

1° *Infections curables.*

Nous rapportons ici les résultats obtenus chez les rats 22, 27, 28 et 29 qui ont tous guéri de leur infection.

Rat 22

16/2/1951 - I. P.	G. R.	H. B.	Hématies parasitées
20	8.000.000	85 %	2 %
22	7.200.000	80 %	4 %
24	5.200.000	60 %	8 %
26	4.800.000	70 %	2 %
28	2.120.000	60 %	0,5 %
2/3/1951	2.560.000	60 %	0 %
5	4.480.000	80 %	0 %
7	4.800.000	85 %	0 %

Rat 27

16/2/1951 - I. P.	G. R.	H. B.	Hématies parasitées
20	8.000.000	90 %	1 %
22	7.400.000	80 %	4 %
24	5.920.000	60 %	10 %
26	3.200.000	70 %	20 %
28	3.040.000	60 %	10 %
2/3/1951	4.800.000	80 %	0,5 %
5	4.960.000	90 %	0 %

Rat 28

16/2/1951 - I. P.	G. R.	H. B.	Hématies parasitées
20	8.320.000	70 %	2 %
22	7.200.000	70 %	6 %
24	5.280.000	50 %	10 %
26	3.400.000	50 %	5 %
28	3.200.000	50 %	3 %
2/3/1951	4.000.000	70 %	+
5	6.400.000	80 %	0 %

Rat 29

23/1/1951 - I.P	G. R.	H. B.	Hématies parasitées
24	8.000.000	100 %	0
26	6.300.000	80 %	3 %
29	6.200.000	80 %	5 %
31	4.200.000	70 %	15 %
2/2/1951	3.300.000	60 %	15 %
5	1.600.000	50 %	0
6	1.200.000	30 %	0
8	1.000.000	30 %	0
10	1.800.000	60 %	0
12	4.200.000	60 %	0
14	6.800.000	60 %	0

Ces exemples montrent que, même chez les rats qui guérissent de leur infection et qui ont une infection faible, l'anémie est intense. Notons que le nombre des globules rouges diminue régulièrement au cours de l'infection, même quelques jours après sa décroissance, pour remonter ensuite assez rapidement.

2° *Infections mortelles.*

Les mêmes examens ont été faits chez les rats 19, 20 et 21 qui ont fait une infection plus sévère et en sont morts.

Rat 19

Inoculé I. P. le 2/1/1951

	G. R.	H. B.	Hématies parasitées
10	6.000.000	90 %	6 %
11	4.000.000	40 %	16 %
12	2.800.000	40 %	23 %
14	2.000.000	40 %	28 %
15	1.700.000	40 %	35 %
16	2.000.000	40 %	40 %
17	1.500.000	40 %	55 %
18	1.700.000	40 %	65 %
19	θ		

Rat 20		Inoculé I. P. le 2/1/1951		
		G. R.	H. B.	Hématies parasitées
10		2.700.000	65 %	20 %
11		2.700.000	70 %	22 %
12		1.800.000	65 %	25 %
14		2.000.000	60 %	65 %
15		2.200.000	60 %	60 %
16		2.400.000	55 %	65 %
17	θ			

Rat 21		Inoculé I.P. le 2/1/1951		
		G. R.	H. B.	Hématies parasitées
9		6.000.000	75 %	1 %
10		4.800.000	75 %	2 %
12		3.500.000	70 %	11 %
14		2.000.000	50 %	18 %
15		2.000.000	40 %	22 %
16		1.600.000	35 %	45 %
17		1.600.000	50 %	55 %
18		1.600.000	40 %	65 %
19		2.000.000	35 %	60 %
20	θ			

Chez ces trois derniers animaux, l'anémie a été aussi très intense, mais le nombre des globules rouges n'est cependant pas descendu au-dessous de 1.500.000 par mm^3.

B. Hématies polychromatophiles.

Dès le troisième jour de la maladie, nous trouvons un certain nombre d'hématies polychromatophiles. Elles semblent plus propices à la pénétration et au développement des hémotozoaires et sont infectées dès qu'on les décèle dans la circulation.

Puis, quand l'infection progresse, la majorité des hématies parasitées sont des hématies polychromatophiles (80 % et même plus). Quelques hématies polychromatophiles ne sont cependant pas infectées, tandis que quelques globules rouges éosinophiles le sont. Si l'animal guérit, leur nombre reste élevé et ce n'est que petit à petit, en une semaine, qu'elles seront remplacées par des hématies éosinophiles.

C. Erythroblastes.

Il est fréquent, à l'examen du sang d'un rat non infecté, de rencontrer quelques érythroblastes (4 pour 100 globules blancs) chez un rat qui a 12.000 globules blancs et 8.000.000 de globules rouges par mm³, ce qui fait 480 érythroblastes par mm³ de sang.

En cours d'infection on en voit un beaucoup plus grand nombre, sans qu'il y ait cependant de rapport entre ce nombre et le pourcentage d'hématies parasitées.

Le protoplasme de ces érythroblastes, lors d'une infection sévère, est souvent infecté par un ou plusieurs hématozoaires. On y voit même des rosaces complètement développées.

Le rat 141 est celui chez lequel nous avons noté la proportion la plus importante d'érythroblastes par rapport au nombre de globules rouges. Inoculé le 26/5/1951 par voie intrapéritonéale il a, le 8/6, 85 % de ses hématies parasitées et une proportion de 1 érythroblaste pour 5 globules rouges.

D. Résistance globulaire.

Chez cinq animaux, nous avons étudié la résistance globulaire au cours de l'infection. Nous avons employé la technique indiquée dans le *Manuel Technique de Microbiologie et Sérologie* de A. Calmette, A. Boquet, L. Negre et J. Bretey.

Notre échelle de concentration allait de 5,3 ‰ à 2,1 ‰ (5,3 - 4,9 - 4,5 - 4,1 - 3,7 - 3,3 - 2,9 - 2,5 - 2,1).

A l'état normal l'hémolyse initiale se produisait à 3,7 ‰, quelques fois nous l'avons obtenue à 4,1 ‰ ou, au contraire, 3,3 ‰. Nous rapportons ici les résultats que nous avons obtenus (voir tableau ci-contre) :

Cette étude nous a montré qu'au cours de l'infection on observe une diminution de la résistance globulaire. Cette diminution n'est pas en rapport avec le nombre d'hématies parasitées, mais avec le nombre d'hématies polychromatophiles. Les hématies polychromatophiles sont plus fragiles que les hématies éosinophiles et, plus leur pourcentage est important par rapport au nombre total des hématies, plus la résistance globulaire est diminuée.

	21/6/51	25/6/51	27/6/51	29/6/51	2/7/51	4/7/51	6/7/51	9/7/51	18/7/51
Rat 130 Ip - 23/6/1951		P.L. = 0 H. I. = 3,7 H.T. = 2,1	P.L. = +	P.L. = 2 % H. I. = 4,5 H.T. = 2,1	P.L. = 4 %	P.L. = 1 % H. I. = 5,3 H.T. = 2,1	P.L. = +	P.L. = 0 H. I. = 4,1 H.T. = 2,1	P.L. = 0 H. I. = 4,1 H.T. = 2,1
Rat 139 Ip - 23/6/1951		P.L. = 0 H. I. = 4,1 H.T. = 2,1	P.L. = 1 %	P.L. = 3 % H. I. = 4,5 H.T. = 2,1	P.L. = 5 %	P.L. = 25% H. I. = 4,5 H.T. = 2,1	P.L. = 30%	P.L. = 0 H. I. = 3,5 H.T. = 2,1	P.L. = 0 H. I. = 4,1 H.T. = 2,1
Rat 140 Ip - 23/6/1951		P.L. = 0 H. I. = 3,7 H.T. = 2,1	P.L. = 0	P.L. = 2 % H. I. = 4,1 H.T. = 2,1	P.L. = 5 %	P.L. = 12% H. I. = 3,9 H.T. = 2,1	Disparu		
Rat 160 Ip - 23/6/1951	H. I. = 3,3 H.T. = 2,1	P.L. = 0 H. I. = 3,7 H.T. = 2,1	P.L. = 0	P.L. = 2 % H. I. = 4,5 H.T. = 2,9	P.L. = 4 %	P.L. = 8 % H. I. = 4,1 H.T. = 2,5	P.L. = 12%	P.L. = 0 H. I. = 4,1 H.T. = 2,1	P.L. = 0 H. I. = 3,5 H.T. = 2,1
Rat 161 Ip - 23/6/1951	H. I. = 3,3 H.T. = 2,1	P.L. = 0 H. I. = 4,1 H.T. = 2,1	P.L. = 2 %	P.L. = 3 % H. I. = 4,1 H.T. = 2,9	P.L. = 4 %	P.L. = + H. I. = 3,9 H.T. = 2,1	P.L. = +	P.L. = 0 H. I. = 5,3 H.T. = 2,1	P.L. = 0 H. I. = 3,5 H.T. = 2,1

H.T. = Hémolyse totale.
P.L. = % de G.R.P. pour 100 G.R.
H. I. = Hémolyse initiale.

E. Auto-agglutination des hématies.

Nous avons observé quatre fois le phénomène de l'auto-agglutination des hématies, par présence d'agglutinines froides. Il s'agissait de formes sévères.

Nous avons aussi recherché, sans le trouver, le phénomène de l'agglutination intravasculaire (blood sludged phenomenon) en examinant au microscope le mésentère d'un rat fortement infecté. Signalons toutefois que l'examen anatomo-pathologique a montré la présence d'hématies agglutinées dans les capillaires cérébraux.

F. Variations leucocytaires.

1° *Modifications quantitatives.*

Au cours de l'infection nous n'avons pas trouvé de variations appréciables du nombre des globules blancs, à la condition de prendre la précaution de ne pas répéter les prélèvements de sang à la queue, sinon la réaction inflammatoire locale qui s'est produite a pour conséquence que l'on trouve, aux examens ultérieurs, une forte leucocytose (20.000 globules blancs par mm^3 et plus), et des modifications de la formule leucocytaire : augmentation du nombre de polynucléaires et apparition de cellules macrophagiques.

Une difficulté doit être signalée pour la numération des globules blancs : c'est la présence de très nombreux érythroblastes, quand l'infection est sévère ; ces cellules étant réfringentes quand on regarde le sang dans l'hématimètre de Malassez. Avec un peu d'habitude, on arrive en général à les distinguer des globules blancs, et en particulier des lymphocytes, parce que leur taille est plus petite, et en faisant varier la mise au point, on distingue une couronne protoplasmique très nette autour du noyau.

Exemples :

Rat 29 : Inoculé I.P. le 23/1/51

23/1/15	24	26	29	31	6/2	8	12	14
G.R.P.	0	3 %	5 %	15 %	0	0	0	0
G.B.	12.000	11.000	12.000	11.800	11.000	12.000	11.500	12.000
G.R.	8.000.000	6.300.000	6.200.000	4.200.000				

Rat 162 : Inoculé I.P. le 12/6/51

12/6/51	15/6/51	18/6/51	20/6/51	22/6/51	26
G.R.P.	0	5 %	8 %	10 %	50 %
G.B.	6.400		8.000	7.200	
G.R.	6.400.000		5.600.000	3.680.000	0

Rat 191 : Inoculé I.P. le 17/7/51

	11/7/51	16/7/51	17/7/51	21/7/51	24/7/51	24/7/51
G.R.P.				1 %	5 %	
G.B.	12.800	11.200		11.600	12.000	
G.R.	7.600.000	7.680.000		5.760.000	4.800.000	0

2° *Modifications qualitatives.*

La formule leucocytaire ne présente pas de modifications très importantes. On note toutefois une augmentation des cellules mononucléées, particulièrement des moyens mononucléaires et des monocytes. Ces deux dernières catégories de cellules contiennent souvent des grains de mélanine.

Exemples :

Rat 162 : Inoculé I.P. le 12/6/51

	15/6/51 G.P.R. = 0	20/6/51 G.R.P. = 8 %
G.R.	6.400.000	5.600.000
G.B.	6.400	8.000
Monocytes	3	4
Moyens Mononucléaires	1	12
Lymphocytes	82	60
Polynucléaires	13	19
Eosinophiles	1	3
Basophiles	0	2

Rat 163 : Inoculé I.P. le 12/6/51

	15/6/51 G.P.R. = 0	20/6/51 G.R.P. = 7 %
G.R.	6.400.000	6.400.000
G.B.	10.400	12.200
Monocytes	2	10
Moyens Mononucléaires	4	7
Lymphocytes	83	69
Polynucléaires	8	14
Eosinophiles	3	0
Basophiles	0	0

On remarque parfois aussi la présence, en petit nombre, de cellules à tendance plasmocytaire et de cellules histiocytaires. Notons aussi l'apparition, au cours de l'infection, de polynucléaires basophiles et de granulations toxiques dans les polynucléaires neutrophiles.

Enfin il faut signaler, ce qui gêne considérablement pour l'établissement de la formule (comme pour la numération), la présence de noyaux nus et de plaques réticulées (ou ombres nucléaires), ce qui traduit la fragilité de nombreux leucocytes ; il semble d'après l'examen des formes qui ne sont pas trop altérées, qu'il s'agisse surtout de monocytes.

CHAPITRE VI

ETUDE CLINIQUE DU PALUDISME EXPERIMENTAL DU RAT

I. Les signes cliniques

Nous avons déjà dit, à propos de la période pré-patente, que la maladie évolue presque entièrement sans manifestations cliniques décelables. Aucun signe ne traduit le début de la maladie. Quand l'infection sanguine est intense l'animal est apathique, souvent immobile ; restant seul dans un coin de la cage ou au contraire serré contre d'autres infectés comme lui. Il paraît aussi moins vorace, indifférent à ce qui l'entoure. Son pelage est moins lisse, moins brillant.

Ce sera seulement aux approches de la mort que les signes cliniques deviendront plus évidents : l'animal est amaigri, efflanqué, sa colonne vertébrale saillante. Ses poils sont ternes, hérissés, ses oreilles pâles, ses muqueuses décolorées, ses yeux très pâles. Il est hypothermique, très apathique, n'essaye plus de s'échapper lorsqu'on tente de le prendre, ni de mordre quand on prélève le sang.

Par la suite, il se couche sur le côté, n'importe où, les pattes étendues, la tête horizontale. Sa respiration se ralentit. Ses oreilles ou sa queue coupées ne saignent que très peu. Puis, on entre dans la phase terminale, comateuse. La tête est sur le côté comme le corps, la respiration irrégulière et l'animal est pris de courtes périodes de convulsions, tandis que son dos se cambre. Par la suite, ses soubresauts diminuent d'intensité, se font de plus en plus rares, et, insensiblement il passe de l'agonie à la mort.

En cours d'infection, au point de vue clinique, nous avons essayé de suivre plus particulièrement le poids et la température.

1° Le poids.

Les variations de poids d'un rat impaludé dépendent de deux facteurs :

— de l'âge ;

— de l'intensité de l'infection.

A. *Rat en croissance.*

1) Lors d'une infection bénigne, on notera simplement une courbe de poids moins ascendante que celle d'un rat témoin. Si le rat témoin prend, par exemple, deux à trois grammes par jour au cours de la semaine, le rat impaludé, de même poids, pourra n'en prendre que un ou deux, mais rattrapera ce retard après sa maladie.

Rat 163	12/6/51	13	15	18	20	22	25	27	29	2/7	4
	I.P.	0	0	2 %	7 %	30 %	0	0	0	0	0
	Poids	109	111	115	118	122	132	133	138	149	155
Rat témoin		104	111	119	122	126	132	138	142	148	153

2) Lors d'une infection sévère au contraire, le poids continuera à augmenter pendant quelques jours, puis sera stationnaire, et descendra ensuite régulièrement jusqu'à la mort. Un de nos rats inoculé alors qu'il pesait 91 grs est monté jusqu'à 102 grs (alors qu'il avait 8 % de ses hématies parasitées) ; le poids est ensuite redescendu régulièrement au fur et à mesure des progrès de l'infection pour tomber à 84 grs, le jour de la mort (il avait alors la moitié de ses hématies parasitées).

Rat 162

12/6/51	13	15	18	20	22	25	26	
I.P.	0	0	4 %	8 %	10 %	40 %	50 %	
	91	92	95	102	96	93	84	0

B. *Rat adulte.*

1) Le rat adulte qui n'augmente de poids que très lentement présente seulement un léger fléchissement de son poids si son infection est bénigne, mais récupère rapidement.

Rat 29

23/1/51	24	2 5	26	27	29	30	31	1/2	2	5	6
	0	2 %	3 %	5 %	5 %	8 %	15 %	20 %	15 %	0	0
Poids	220	222	226	216	200	206	210	210	210	212	215

2) Si l'infection est sévère, la chute de poids est régulière et importante. C'est ainsi qu'un rat adulte qui meurt de son paludisme peut perdre 15 et même 20 % de son poids initial.

Rat 21

2/1/51	3	4	5	8	9	10	12	13	14	15	16	17	18	19	
	0	0	0	+	1 %	2 %	11 %	15 %	18 %	22 %	45 %	55 %	65 %	60 %	
Poids	160	154	154	160	162	166	148	148	148	146	146	130	130	124	0

2° La température.

Il n'y a pas d'accès fébrile lors de l'apparition des hématozoaires dans le sang ni d'hyperthermie manifeste et durable pendant la durée de l'infection sanguine ; mais à la différence des animaux normaux, la température est très variable. Variable non seulement d'un jour au lendemain, mais même d'une heure à l'autre. Il n'est pas rare qu'un rat impaludé, dont la température à 8 heures du matin est de 37°5 ait 37°9 ou même 38 à 10 heures et 38°5 à 39 à 14 heures.

Seule, la chute de température anté-morten (la température descend jusqu'à 35 et même 34°5) est à la fois caractéristique et d'une valeur pronostic toujours fâcheuse.

II. Formes évolutives

Nous avons vu que seuls des examens sanguins répétés nous renseignaient sur l'évolution de la maladie (importance de l'infection, degré de l'anémie) et nous permettaient d'en classer les différentes formes.

Sur un total de 139 rats (pesant plus de 80 grs) dont nous avons laissé évoluer la maladie sans aucune intervention, 60 sont morts ce qui représente une mortalité de 43 %. Il faut toutefois noter que la virulence de la souche a baissé au cours des mois de juin et juillet comme nous le verrons.

A. Infection mortelle.

60 rats sont morts de l'infection première :

1) 26 ont présenté une infection à la fois longue (de 11 à 16 jours) et sévère : 50 à 85 pour cent de leurs hématies étaient parasitées. Il ne semble pas que ce dernier taux ait été dépassé.

Exemples :

Rat 63 (170 grs)	22/3/51	27	29	31	2/4	4	6	7
	I.P.	+	2 %	4 %	15 %	30 %	60 %	60 % 0
Rat 76 (90 grs)	30/3/51	2 4	4	6	9	11	13	16
	I.P.	0	1 ‰	10 %	30 %	50 %	50 %	60 % 0
Rat 86 (150 grs)	2/4/51	7	9	11	13	16	18	20
	I.P.	1 ‰	1 %	6 %	10 %	40 %	45 %	85 % 0

2) 20 autres ont eu une infection sanguine d'intensité moyenne : 15 à 40 pour cent de leurs globules rouges étaient atteints et la durée de l'infection fut comprise entre 6 et 12 jours.

Exemples :

Rat 81 (205 grs)	25/4/51	28	30	2/5	4				
	I.P.	0	1 %	10%	25%	θ			
Rat 121 (140 grs)	25/4/51	28	30	2/5	4	7	9	11	
	I.P.	0	+	1 %	4 %	18%	25%	30%	θ
Rat 106 (89 grs)	12/5/51	17	19	21	23				
	I.P.	+	4 %	12%	20%	θ			

3) 8 sont morts avec une infection sanguine faible : 2 à 10 pour cent de leurs hématies étaient parasitées et la durée de la maladie a varié entre 4 et 9 jours.

Exemples :

Rat 116 (198 grs)	25/4/51	28	30	2/5	4	7	
	I.P.	0	1 %	4 %	6 %	12 %	θ
Rat 101 (120 grs)	12/5/51	17	19	21	22		
	I.P.	+	1 %	2 %	3 %	θ	
Rat 110 (110 grs)	12/5/51	18	20	21	23		
	I.P.	0	1 %	3 %	6 %	θ	

Chez ces 54 rats ayant succombé, la sévérité de l'infection a été fonction de sa durée, autrement dit de la résistance de l'animal à l'anémie. De plus, 6 d'entre eux sont morts avec un pourcentage de globules rouges parasités très inférieur au taux maximum atteint, comme si l'animal était mort d'épuisement alors qu'il était en voie de guérison.

Exemples :

Rat 23	19/1/51	22	24	26	29	30	31	2/2	7				
	I.P.	1 ‰	2 %	4 %	10 %	50 %	40 %	20 %	15 %	θ			
Rat 34	7/2/51	9	10	12	15	16	17						
	I.P.	0	1 %	3 %	1 %	1 %	1 ‰	θ					
Rat 134	4/5/51	5	7	9	11	12	15	17	19	21	23	25 %	25 %
	I. C.	2 %	10 %	1 %	10 %	15 %	20 %	25 %	30 %	50 %	30 %	20 %	15 %	θ

Rat 134, le 7/5/1951 : mise bas de 10 petits.

4) Formes mortelles après disparition de l'infection sanguine.

Nous avons vu que certains animaux tels les n^{os} 23, 34 et 134 que nous avons cités en exemple, étaient morts avec un pourcentage d'hématies parasitées bien inférieur au taux maximum atteint. 6 autres rats sont morts après disparition de l'infection sanguine : pour 3 rats ce fut dans les six jours qui ont suivi leur guérison, pour 3 autres dans les deux semaines.

Exemples :

Rat 16	8/12/51	10	12	14	18	22	24	26				
	I.P.	+	3 %	10 %	30%	50 %	+	0 θ				
Rat 32	7/2/51	9	12	15	16	19	21	24	26	28	2	7
	I.P.	+	6 %	10 %	20 %	80 %	4 %	1 %	+	0	0	0 θ
Rat 35	7/2/51	9	12	15	16	19	21	23	26	1/3		
	I.P.	0	+	1 %	4 %	1 %	+	+	0	0 θ		

Il est logique de penser que ces animaux ne se sont pas remis des perturbations causées par l'infection aiguë.

Pour ces formes mortelles, le poids de l'animal n'a pas joué un rôle capital dans le devenir de l'infection car nous notons des poids de 80, 120 et 170 grs (ou plus), indifféremment dans chacune des trois catégories.

Infection forte :	Infection moyenne :	Infection faible :
Rat 76 : 90 grs 60 %	106 : 89 grs 20 %	142 : 93 grs 5 %
Rat 123 : 120 grs 70 %	121 : 140 grs 30 %	101 : 120 grs 3 %
Rat 63 : 170 grs 60 %	81 : 205 grs 25 %	116 : 198 grs 12 %

B. Infection spontanément curable.

Chez les 79 rats qui ont guéri spontanément on retrouve les trois mêmes types d'infection.

1) 36 animaux ont été moyennement infectés. Le pourcentage de leurs globules rouges parasités a été de l'ordre de 20, quelques fois de 30 ou même de 40 %. La maladie a duré de 9 à 15 jours.

Rat 84 (170 grs)	2/4/51	4	7	9	11	13	16	18	20	22	25	
	I. p.	0	1 ‰	1 %	2 %	5 %	15 %	2 %	0	0	0	
Rat 85 (170 grs)	2/4/51	4	7	9	11	13	16	18	20	23	25	27
	I. p.	0	1 ‰	1 %	5 %	8 %	25 %	40 %	25 %	+	0	0
Rat 133 (175 grs)	4/5/51	5	7	9	11	12	15	17	19	21	23	
	I. c.	+	1 %	5 %	25 %	20 %	10 %	+	0	0	0	

2) 25 rats qui ont présenté une infection faible ont eu de 2 à 12 pour cent de leurs hématies parasitées. La maladie a cependant duré de 8 à 13 jours. Il semble que la résistance de l'animal, plus grande au départ, ait pu freiner la multiplication des hématozoaires sans pour cela pouvoir la juguler plus rapidement.

Rat 51 (295 grs.)	20/3/51	22	24	27	29	31	2/4	4	6	9	11	13
	I. p.	0	0	+	2 %	4 %	8 %	6 %	2 %	0	0	0
Rat 66 (225 grs)	22/3/51	27	29	31	2/4	4	6	9	11	13		
	I. p.	+	2 %	5 %	8 %	2 %	2 %	2 %	0	0		
Rat 52 (202 grs)	20/3/51	22	24	27	29	31	2/4	4	6	9	11	13
	I. p.	0	0	+	2 %	3 %	5 %	2 %	1 %	+	0	0

3) 18 rats ont présenté une infection sanguine sévère : 40 à 80 pour cent des hématies parasitées. La guérison n'est survenue qu'après 11 à 18 jours.

Rat 78 (100 grs)	30/3/51	2/4	4	6	9	11	13	16	18	20	25	27	
	I. P.	0	+	5 %	10 %	25 %	45 %	25 %	1 %	+	0	0	
Rat 105 (115 grs)	18/4/51	20	22	24	26	28	30	2/5	4	7	9	11	
	I. C.	0	+	6 %	12 %	15 %	25 %	35 %	45 %	0	0	0	
Rat 109 (105 grs)	18/4/51	20	22	24	26	28	30	2/5	4	7	9	11	13
	I. P.	0	+	5 %	10 %	15 %	35 %	60 %	65 %	60 %	40 %	0	0

C. Infection inapparente.

L'inoculation semble avoir échoué : à aucun moment on ne met en évidence d'hématozoaires dans le sang. Mais deux reinoculations ultérieures échouent aussi. Il s'agit donc ou d'un animal naturellement réfractaire au *Plasmodium berghei* ou d'une infection latente d'emblée, infection inapparente qui aboutit à la réalisation d'un état de prémunition. Nous avons deux fois dû émettre cette hypothèse.

D. Formes évolutives atypiques (évolution irrégulière de la parasitémie).

4 animaux ont eu une évolution très irrégulière de leur infection. Elle n'a pas été régulièrement croissante puis décroissante comme chez les autres rats, mais a présenté des oscillations.

Rat 43	6/4/51	10	12	13	16	18	23	25	27	3	2/5	à	12/5			
	I. P.	+	3 %	5 %	10 %	0	2 %	20 %	0	+	0	—	0			
Rat 118	25/4/51	27	28	30	2/5	4	7	9	11	12	15	au	21			
	I. P.	0	0	+	1 %	1 %	+	0	1 %	3 %	0	—	0			
Rat 47 c	12/3/51	8	19	20	21	22	23	24	25	26	27	28	29			
	I. P.	+	2 %	3 %	5 %	6 %	10 %	20 %	8 %	12 %	15 %	20 %	30 %	0		
Rat 147 c	12/3/51	14	16	17	18	19	20	21	22	23	24	25	27	29		
	I. P.	0	+	1 %	2 %	5 %	7 %	15 %	20 %	10 %	8 %	4 %	12 %	30 %	0	

Rien n'indique les causes de cette évolution irrégulière de la parasitémie.

Rappelons que dans les réveils du paludisme qui suivent la splénectomie, l'infection sanguine a une allure moins régulière que dans les formes curables. Après une phase d'infection sanguine intense, si la mort ne survient pas, il y a diminution rapide du nombre des globules rouges parasités, mais la guérison clinique n'est pas acquise pour cela : on constate pendant longtemps la présence de globules rouges parasités à un taux faible, mais variable d'un jour à l'autre.

E. Commentaires.

1° *Rapports de l'âge et de la sévérité de l'infection.*

H. Galliard et Lapierre ont montré que « chez le rat, la gravité de l'infection était une question d'âge ». Dans leur mémoire à la « Société de Pathologie exotique », de décembre 1950, ils citent leurs expériences montrant que sur 4 rats de 50 grs il y eut 2 décès, sur 4 rats de 120 grs il n'y eut qu'un décès et qu'enfin les 4 rats de 250 grs ont tous survécu à l'infection, et ils concluent que « le poids et l'âge exercent « une influence très nette sur l'évolution de l'infection à *Plas-* « *modium berghei* chez le rat. Les jeunes rats de 50 grs sont « beaucoup plus sensibles à l'infection et meurent plus fré- « quemment que les rats de 100 et 120 grs qui, eux-mêmes, « sont moins résistants que les gros rats de 250 grs ».

Alors que chez nos animaux qui ont succombé à leur infection nous trouvons des poids variant de 80 à 170 grs dans chacune des trois catégories, chez ceux qui ont guéri, nous constatons aussi, dans plus des trois-quart des cas, que le degré de l'infection est en rapport avec le poids. On note ainsi une infection faible chez les rats pesant 200 grs ou davantage, une infection moyenne chez ceux qui pèsent de 115 à 200 grs et une parasitémie importante chez ceux dont le poids est inférieur à 115 grs.

2° *Différences évolutives.*

Si les différentes formes de ce paludisme présentent de nombreux caractères généraux communs, elles montrent cependant de grandes différences individuelles du point de vue

de l'évolution et de l'intensité de l'infection, ce qui fait que l'on ne peut guère prévoir pour un animal déterminé quelle sera la terminaison de l'infection (en dehors du cas du tout jeune animal). Ce qui confirme cette loi générale énoncée par Taliaferro : « The extend and acutness of the parasitemia, the sharpness of the parasite decline, the frequency of relapse, the tendency to spontaneous recovery, and the like, all depend upon the virulence of the parasite, the dose and mode of inoculation, as well as upon the innate and acquired immunity of the hoste. There is therefore, no typical, stereotyped infection for any fine species or even for any strain of *Plasmodium* » (71).

Les seuls signes microscopiques qui aient une valeur pronostique grande (mais pas absolue), sont la constatation d'un pourcentage élevé d'hématies parasitées (> 70 %) et d'une forte érythroblastose sanguine.

3° *Terminaison de la période patente* (*phase critique et de déclin*).

Dans plus de la moitié des cas, chez les rats guéris, la proportion des globules rouges parasités est tombée en 48 h. du taux maximum atteint à la proportion de 1 % ou même à un taux bien inférieur. A cette crise correspond un aspect très particulier du frottis de sang, décrit au chapitre Parasitologie ; elle est particulièrement importante pour la physio-pathologie de cette infection puisque c'est elle qui va juger (au sens éthymologique du terme), l'évolution de la maladie.

Cette notion n'est cependant pas absolue puisque la mort est survenue 12 fois, donc à peu près une fois sur 5 décès (20 % ± 8), soit alors que le taux des hématies parasitées avait considérablement diminué (6 cas), soit après disparition des hématozoaires du sang (6 cas). Dans la première éventualité, nous remarquons qu'il y a eu décroissance lente et progressive du nombre des globules rouges parasités et qu'il n'y a pas eu de véritable crise ; de même Thomson, Freund, Sommer et Walter ont remarqué, dans le paludisme des oiseaux, que la mort ne survient pas toujours quand la parasitémie est au maximum, mais qu'elle peut se produire

un ou deux jours après quand le nombre des parasites circulant diminue (74) ; cette observation est aussi classique dans la bartonellose du rat (86). Le cas de la mort survenant après disparition des hématozoaires du sang, c'est-à-dire après guérison clinique apparente, est plus surprenant et on peut se demander s'il n'y a pas eu alors infection secondaire.

4° *Variation de la virulence de l'hématozoaire.*

Alors qu'à la fin de l'automne (époque à laquelle nous avons commencé nos expériences), en hiver et au début du printemps l'infection était habituellement sévère et entraînait la mort approximativement dans la moitié des cas (57 décès sur 103 animaux, soit 55 % ± 8), à partir de la fin du mois de mai et pendant les mois de juin et de juillet, la virulence a baissé et nous n'avons plus noté que 3 décès sur 27 animaux (soit 11 % ± 7) ; le taux de parasitémie était dans l'ensemble très peu élevé. Les conditions de régime et d'habitat étant restées les mêmes, il était logique de penser à une influence climatique, en particulier à une hausse de la température.

Pour étudier la valeur de cette hypothèse nous avons maintenu 3 rats à une température de + 6° (cage mise dans un frigidaire) pendant toute la durée de l'infection ; s'il n'y a pas eu d'infection mortelle, les taux maxima de parasitémie atteints ont été de 20, 25 et 50 %, ce qui est supérieur au taux d'infection rencontré chez les animaux inoculés en même temps et aux mêmes doses et maintenus à la température du laboratoire.

Nous ne pouvons encore savoir s'il s'agit d'une baisse définitive de la virulence de la souche. Cette baisse de la virulence par passages répétés sur une espèce animale sensible, au lieu de l'habituelle exaltation, est un phénomène fort rare en pathologie infectieuse, mais il a déjà été signalé (par exemple par Cotoni, pour le pneumocoque) (10). Il faut signaler qu'il n'y a pas eu en même temps baisse de la virulence pour la souris. Quoiqu'il en soit, il est intéressant de noter ce fait qui peut expliquer des différences de résultats obtenus par divers expérimentateurs.

III. Formes compliquées

a) *Forme à type de fièvre bilieuse hémoglobinurique :*

15 animaux sur 133 (soit 11 %) ont présenté, au cours de l'infection palustre, un syndrome d'ictère avec hémoglobinurie. L'attention était attirée par les urines qui présentaient une teinte « Bordeaux » très foncée ; les urines recueillies ne contenaient pas d'hématies, mais la réaction de Meyer était fortement positive, montrant la présence de pigment hémoglobinique. Le plus souvent cette hémoglobinurie se manifestait au cours d'une infection sévère et mortelle à brève échéance. A l'autopsie, les séreuses contenaient une sérosité jaunâtre, les viscères avaient une coloration jaune, le foie était marron foncé, les poumons présentaient de nombreuses hémorragies punctiformes, les intestins étaient remplis d'une grande quantité de liquide bilieux.

b) *Formes ictériques :*

Nous avons observé 3 cas de paludisme du rat s'accompagnant d'ictère : coloration jaune des muqueuses et de la séreuse péritonéale, urines brun foncé ne contenant pas d'hémoglobine mais une grande quantité de pigments biliaires.

c) *Formes nerveuses :*

3 animaux ont présenté des formes nerveuses : 2 sont morts après avoir eu des accidents convulsifs, le troisième a eu des paralysies qui ont régressé.

Le rat 40, inoculé le 4/2/51, présente une infection qui se développe normalement. Or, le 22, il est pris de crises de convulsions toniques et cloniques répétées, puis après douze heures d'agonie pendant lesquelles ses convulsions ne se sont pas arrêtées, il meurt, bien qu'ayant 20 % seulement de ses globules parasités.

Le rat 53, inoculé le 20/3/51, présente une infection qui le 14/4 atteint 12 % de ses hématies. Le 16 il est guéri cliniquement. Tout va bien jusqu'au 7 du mois suivant où il semble apathique. Le 8/5 au matin son train arrière est paralysé en extension. Ses pattes, contracturées, sont prises de violentes crises de convulsions toniques. Le soir, il meurt sans que les examens de sang puissent rien déceler.

Le rat 150, inoculé le 26/5/51 avec 800.000 *Plasmodium* a une infection qui le 4/6 atteint 8 % de ses hématies. Ce même jour ses pattes postérieures sont paralysées en extension et il ne peut se déplacer que par des mouvements de reptation et avec l'aide de ses autres pattes. Sa sensibilité semble conservée partout. Le 6 l'animal guérit de son paludisme en même temps que nous observons une régression de sa paralysie. Le 7 il est complètement guéri, sans séquelles, et court dans sa cage.

En l'absence d'examens anatomo-pathologiques, nous ne pouvons émettre que des hypothèses pour expliquer la pathogénie de ces accidents nerveux : obstruction mécanique de capillaires du tissu nerveux par des agglutinations intravasculaires ? Infection associée à ultra-virus neurotrope ? Signalons que nous n'avons pas eu chez nos animaux en expérience ou en élevage, d'autres cas d'atteintes nerveuses.

IV. Paludisme congénital

Le paludisme congénital démontré dans l'espèce humaine par diverses observations cliniques et des constatations microscopiques, n'a guère été étudié expérimentalement chez l'animal, malgré l'intérêt de recherches qui pourraient permettre d'élucider le mécanisme de cette transmission. Seul Das Gupta a recherché, sans succès, chez la femelle de M. Rhesus infectée par *Plasmodium Knowlesi,* le passage de l'hématozoaire au fœtus.

L'expérimentation, plus facile dans le cas du paludisme des rongeurs à *Plasmodium berghei,* a permis à G. Fabiani, H. Jahier, R. Vargues et G. Fulchiron (22), de reprendre ces études.

Des rats femelles ont reçu dans le péritoine, selon la technique classique, du sang d'animaux infectés. L'inoculation a été pratiquée au début de la gestation pour que la durée de la maladie (temps de latence et infection manifeste) soit au minimum de trois semaines, corresponde au temps de la gestation.

Trois rates ont été ainsi inoculées au début de la gestation. Deux ont donné naissance à 6 et 7 petits non impaludés.

La troisième est morte de paludisme vers le dix-huitième jour de la gestation. A l'autopsie, 7 fœtus ont été prélevés dans l'utérus. L'un d'entre eux présentait quelques hématies parasitées dans le sang du cœur et dans le foie quelques cellules mélanifères. Son sang était infectant pour la souris. Chez un deuxième fœtus, on a observé des hématies parasitées dans le sang du cœur et du foie et aussi quelques trophozoïtes phagocytés dans les cellules de KUPFER. Les autres fœtus n'avaient d'hématozoaires ni dans le sang, ni dans le foie.

La réalité de la traversée placentaire du *Plasmodium berghei* est donc démontrée d'une façon certaine chez le rat infecté expérimentalement. Ces constatations ont été faites dans des conditions qui excluent toute cause d'erreur : fœtus prélevés in utero ou, après interruption de la gestation, encore enfermés dans le sac amniotique, images de phagocytose, cellules mélanifères.

Mais cette infection congénitale n'est pas fréquente (2 fois sur 7 petits rats et si l'on tient compte des chiffres obtenus aussi chez la souris, 4 fois sur un total de 63 petits) ; elle est aussi peu importante, si l'on en juge par le faible degré du parasitisme et semble enfin plus difficile à mettre en évidence dans le sang circulant que dans le sang hépatique, puisque nous avons trouvé plus d'hématozoaires dans le foie que dans le sang.

Malgré sa rareté, cette traversée placentaire est peut-être moins exceptionnelle que l'observation de nouveaux-nés apparemment sains le laisserait supposer. Nous savons, en effet, que quelques hématozoaires ne suffisent pas toujours à infecter l'animal. De plus, des anticorps sont élaborés en cours d'infection, ce que R. VARGUES a démontré (78) ; et les anticorps d'origine maternelle, peuvent peut-être aussi traverser le placenta et être ainsi responsables de cette protection souvent invoquée pour expliquer la résistance relative du nouveau-né au paludisme et favoriser la phagocytose que nous avons vue dans les cellules de KUPFER. Ce n'est qu'une expérimentation plus importante qui nous permettra de savoir dans quelle mesure ce passage placentaire peut aboutir à une infection manifeste du nouveau-né.

V. Paludisme du rat nouveau-né

Nous avons aussi étudié la maladie du petit rat nouveau-né.

1° *Petits inoculés par voie intrapéritonéale.*

a) 2 petits, nés d'une rate non infectée, ont été inoculés par voie intrapéritonéale avec 10.000 globules rouges parasités.

La période pré-patente et la maladie ont duré respectivement 2 et 3 jours et 12 et 14 jours. Le jour de leur mort leur poids avait diminué de 4 grammes par rapport au poids maximum atteint.

Raton A	16/5/51	19	21	24	26	28	31	
	I.P.	+	1 %	8 %	10 %	40 %	0	
			10 gr. 5	12 gr.	11 gr.	8 gr.	8 gr.	
Raton B	16/5/51	20	21	24	26	28	31	3/6
	I.P.	+	3 %	30 %	35 %	40 %	60 %	0
			9 gr. 5	10 gr. 5	11 gr.	12 gr. 5	11 gr.	8 gr. 5

b) 7 petits de la femelle 133, infectée et guérie, sont aussi inoculés par voie intrapéritonéale (50.000 hématozoaires) avec 6 autres nés de la femelle 134 (cette dernière étant morte de son infection peu après la mise bas, nous avons donné ses petits à la femelle 133 qui en allaite donc 13).

Tous ont présenté une infection sévère (40 à 70 % de leurs hématies parasitées) dont ils sont morts. La durée de la période pré-patente a varié de 2 à 4 jours, et la durée de la maladie de 11 à 19 jours. Malgré le développement des hématozoaires, leur courbe de poids a continué à s'élever régulièrement et ils ont pris 5,5 grs à 12,5 grs. Puis, avec les progrés de l'infection, cette élévation s'est arrêtée et la courbe s'est mise à descendre. Le jour de leur mort ils

avaient, à 3 grs près, un poids sensiblement égal à celui qu'ils avaient le jour de l'apparition des hématozoaires.

Ratons	Durée de la période pré-patente	% Maximum de G.R.P.	Durée de la maladie	Poids		
				Jour de l'apparition des hématozoaires	poids maximum atteint	Jour de la mort
1	3	60	13	25	34	24,5
2	3	50	15	27,5	39	30,5
3	4	50	13	27	35,5	26,5
4	3	70	11	25,5	33	22,5
5	4	70	11	27,5	34	25
6	3	40	11	23,5	28,5	20,5
7	2	40	14	24	31,5	22,5
8	3	50	18	18	27	19,5
9	2	50	19	16,5	24,5	17,5
10	4	60	15	17,5	23	20
11	3	60	15	17,5	24	20,5
12	3	50	15	18,5	26	19
13	4	70	17	19	27	21

c) 6 autres petits, ceux de la femelle 94, également guérie de son infection, sont inoculés par la même voie, 18 jours après leur naissance, avec 50.000 hématozoaires.

4 d'entre eux meurent très infectés (45 à 70 % de leurs hématies parasitées) après une longue maladie (16 à 26 jours). La période pré-patente a varié de 2 à 4 jours. Tous ont eu,

vers le milieu de leur maladie, une chute de poids correspondant à celle des petits allaités par la femelle 133.

Ratons	Durée de la P.P.	% maximum de G.R.P.	Durée de la maladie	Poids		
				Jour de l'apparition des hématozoaires	poids maximum atteint	Jour de la mort
1	3	45	16	16	21,5	18
2	4	70	26	19	37	30
3	3	60	17	18	26	20
4	2	50	20	18,5	27,5	23,5

Les 2 autres, par contre, ont eu une courbe de poids qui a continué à s'élever et ont guéri de leur infection. Le premier a eu un pourcentage de 60 % de ses hématies parasitées et le deuxième de 20 %.

Ils ont été ensuite réfractaires à une réinoculation et ont eu un développement normal.

									→Réinoculé		
Raton 5	25/5/51	29	1/5	5	11	16	19	24	26	30	7/6
	I.P.	+	4 %	20 %	60 %	1 %	+	0	0	0	0
	Poids →	19,4	21,6	24,9	28,9	34,5	39,5	43,5	48		
									→Réinoculé		
Raton 6	25/5/51	29	1/5	5	11	16	19	24	26	30	7/6
	I.P.	+	5 %	15 %	20 %	0	0	0	9	0	0
	Poids →	20,3	22	25,8	28,6	35,6	44	49,5	54		

2° *Petits inoculés par voie sous-cutanée.*

3 petits, nés d'une rate non infectée, ont été inoculés par voie sous-cutanée avec 10.000 globules rouges parasités.

Chez 2 d'entre eux on assiste au développement d'une

infection qui sera mortelle. La durée de la période prépatente, celle de la maladie et la chute de poids ont été comparables à celles déjà observées chez les autres rats nouveaux-nés inoculés par voie intrapéritonéale.

Le troisième petit n'a pas été infecté.

3° *Petits inoculés par voie transcutanée.*

A la suite de leurs recherches sur le paludisme congénital, G. Fabiani, H. Jahier et G. Fulchiron ont aussi étudié la voie transcutanée pour rechercher si du sang contenant cet hématozoaire et déposé sur la peau saine ou légèrement scarifiée pouvait provoquer une infection (20). En effet, de nombreux auteurs ont admis que bien souvent le paludisme apparu chez le nouveau-né, dans les premiers jours de la vie extra-utérine, relevait, non pas d'une infection transplacentaire réalisée pendant la grossesse ou lors du travail, mais d'une contamination des téguments de l'enfant, lors de la traversée de la filière génitale, par le sang maternel infecté. Car l'on sait depuis les travaux de Blacklock et Gordon, Graham, Wickramasuriya, Macciotta, qu'en cas de paludisme, le sang des lacunes sangui-maternelles contient un très grand nombre d'hématozoaires. Mais, si cette voie d'inoculation apparaît très probable, elle n'a jamais été démontrée avec certitude. Aussi, bien qu'on ne doive transposer à l'Homme qu'avec beaucoup de prudence les résultats acquis chez l'animal, est-il utile de rechercher si un pareil mécanisme de transmission peut être réalisé dans le cas du paludisme des rongeurs chez le rat nouveau-né.

L'expérience a été faite selon la technique suivante : du sang d'animal très infecté (contenant de 20 à 50 % d'hématies parasitées) a été déposé, dans la région du pli de l'aine, sur la peau de 7 rats, dans les heures qui suivaient leur naissance. La peau était soit intacte (4 petits rats), soit scarifiée de façon très superficielle pour ne pas faire saigner l'animal (3 petits rats).

Résultats.

Sang déposé sur la peau saine		Sang déposé sur la peau scarifiée	
Nombre d'animaux	Nbre d'animaux infectés	Nombre d'animaux	Nbre d'animaux infectés
4	0	3	3

On peut donc conclure que du sang d'animal infecté par *Plasmodium berghei,* déposé sur la peau scarifiée de rats nouveaux-nés, peut traverser le tégument et réaliser une infection. Par contre, la peau saine ne permet pas le passage de l'hématozoaire.

CHAPITRE VII

ASSOCIATIONS MORBIDES

A) Avitaminose A

Le rat étant un animal de choix pour l'observation de la carence en vitamine A, il nous a paru intéressant d'étudier le développement du paludisme sur des animaux en état de carence totale ou de subcarence et l'influence réciproque de ces deux états morbides (27).

M. le Professeur Grangaud et Mlle R. Massonet, du Laboratoire de chimie biologique de la Faculté d'Alger, grâce à leurs conseils et à leur aide, nous ont permis de mener à bien une étude sur l'association paludisme-carence en vitamine A chez le rat.

Notre étude a porté sur 33 rats de race Wistar. Tous ont été mis à un régime carencé en vitamine A, composé de dextrine, caseïne, levure de bière, huile dévitaminée, cellulose et enfin d'un mélange de sels minéraux, dès leur sevrage. Les rats témoins étaient soumis au même régime, mais recevaient en plus 15 unités de vitamine A par jour.

1° *Rats soumis à une carence totale.*

Chez 10 rats, nous n'avons commencé nos expériences qu'au stade de carence constituée. Les animaux soumis à ce régime dépourvu de vitamine A ont une courbe de poids qui n'est pas régulière, mais s'élève par à coups, en escalier, pour arriver à un plateau. Ce plateau, dont le début précède la mort de trois semaines environ, caractérise un état de carence confirmé ; il y a alors des troubles oculaires. Chez un rat, sevré quand il pèse 30 grs, la courbe de poids dessine un

plateau après 30 à 40 jours de régime carencé. L'aspect de l'animal à ce stade est tout à fait caractéristique. Il est amaigri et présente une diarrhée importante. Ses poils sont ternes, hérissés et sales. Des troubles oculaires importants se développent : ulcérations cornéennes, hémorragies intra-oculaires. Les paupières, enfin, sont souvent enflammées et recouvertes de sécrétions purulentes.

a) 4 animaux ont été inoculés par voie intrapéritonéale le 12/3/51 ainsi que 4 animaux témoins soumis au même régime, mais qui avaient reçu, dès l'institution de ce régime, une dose quotidienne de 15 unités de vitamine A. Ces animaux ont reçu un nombre connu d'hématozoaires et ont été répartis en 4 groupes selon la quantité d'hématozoaires injectés :

dose forte (1.800.000) - Rat carencé : 147 ; Rat témoin : 44
dose moyenne (180.000) - Rat carencé : 149 ; Rat témoin : 45
dose faible (18.000) - Rat carencé : 141 ; Rat témoin : 46
dose très faible (1.800) - Rat carencé : 139 ; Rat témoin : 47

Les deux rats carencés 139 et 141 sont morts 3 et 4 jours après l'inoculation sans avoir présenté d'hématozoaires dans le sang. Les deux autres ont eu une infection d'intensité moyenne dont ils sont morts respectivement après 6 et 14 jours. Parmi les quatre rats témoins, deux ont eu une infection comparable à celle des rats carencés, les deux autres ont eu une infection plus sévère.

Rats

12/3/51	13	14	15	16	17	18	19	20	21	22	23	24	25	26	27	28	29	30
147 carencé 1.800.000 P.L.	0	0	0	+	1 %	2 %	5 %	7 %	15 %	20 %	10 %	8 %	4 %	3 %	12 %	20 %	30 %	θ
47 1.800 P.L.	0	0	0	0	0	+	2 %	3 %	5 %	6 %	10 %	20 %	8 %	12 %	15 %	20 %	30 %	θ
149 carencé 180.000 P.L.	0	0	+	2 %	3 %	6 %	15 %	θ										
45 180.000 P.L.	0	0	1 %	3 %	4 %	4 %	10 %	θ										
46 18.000 P.L.	0	0	0	0	1 %	3 %	6 %	7 %	10 %	15 %	20 %	25 %	40 %	50 %	55 %	θ		
44 1.800.000 P.L.	0	+	1 %	2 %	5 %	6 %	10 %	18 %	35 %	40 %	48 %	55 %	58 %	60 %	θ			
139 carencé 1.800 P.L.	0	0	0	0	θ													
141 carencé 18.000 P.L.	0	0	0	θ														

b) Cette expérience a été reprise sur trois autres rats carencés (n^{os} 219, 220, 224), mais au mois de juillet, alors que la virulence de la souche avait baissé et ne provoquait plus que des affections bénignes chez les animaux normaux non carencés.

Ces trois rats ont été inoculés le 2/7/51 avec 200.000 hématies parasitées au moment où leur poids était devenu stationnaire ; trois autres rats carencés non inoculés étaient conservés comme témoins.

Un seul des trois animaux inoculés, le n° 224, a présenté une infection très bénigne (taux maximum de parasitémie : 2 % de G.R.P.) et de brève durée (5 jours), mais après un temps plus long que chez les animaux neufs. Nous n'avons pas observé de différence pondérale sensible avec les animaux carencés témoins (courbe de poids stationnaire d'abord puis descendante). Mais cet animal a présenté des troubles oculaires plus précoces.

2° *Rats soumis à une subcarence.*

Nous avons étudié aussi l'infection de rats subcarencés, pour voir si l'infection paludéenne faisait passer l'animal de l'état de subcarence à l'état de carence révélée.

Treize rats sevrés ont été mis au régime de carence totale, mais nous leur donnions tous les deux jours deux unités de vitamine A, dose qui permet de créer un état de subcarence, intermédiaire entre l'état normal et l'état de carence totale. Nous nous sommes servis de Flétase diluée, de telle sorte qu'une goutte contenait deux unités de vitamine. Ces animaux ont été considérés en état de subcarence après 45 jours de ce régime, à dater de leur sevrage. Ils présentaient une diarrhée légère et leurs poils étaient moins hérissés et moins ternes que ceux des rats carencés. Leur cornée était plus terne que celle des rats normaux ou des rats au régime carencé complété par 15 unités de vitamine A par jour. Mais c'est surtout sur la courbe de poids, qui, s'élevant régulièrement au début, est devenue irrégulièrement ascendante et nous a ainsi confirmé l'état de subcarence.

Neuf de ces rats subcarencés ont été inoculés avec 50.000 hématozoaires. Cinq ont été infectés et l'un d'eux est mort

au cinquième jour de son infection. En cours et en fin d'infection, les troubles oculaires étaient plus marqués que chez les témoins subcarencés non impaludés : cornée plus terne, plus dépolie, œil plus pâle, exophtalmie normale moins prononcée. Ces signes ont régressé lors de la guérison clinique du paludisme. Les courbes d'infection se sont montrées classiques et le fléchissement de poids correspondait à celui d'animaux non carencés.

Rats	26/5/51	28	30	4/6	7	8	11	13	15	18	20	25	6/7
200	I.P.	0	0	3 %	8 %	15 %	1 %	+	0	0	0		
	Poids	140	141	142	143	144	141	140	143	139	138	150	158
202	I.P.	0	0	1 %	10 %	15 %	1 ‰	+	0	0	0		
	Poids	138	142	147	150	146	141	131	129	127	129	145	152
204	I.P.	0	0	5 %	14 %	5 %	1 %	+	0	0	0		
	Poids	106	110	114	112	110	103	105	106	94	96	97	109

Les quatre rats qui n'avaient pas présenté d'infection après la première inoculation ont été réinoculés. Chez un seul est apparue une maladie bénigne (durée de la maladie 5 jours avec un pourcentage maximum de 3 % de G.R.P.). Les trois animaux réfractaires ont été splénectomisés et surrénalectomisés, sans que nous ayons eu de réveil de paludisme latent. Quatre des six rats qui avaient été infectés (les n^{os} 200, 202, 204 et 210) ont été splénectomisés un mois après leur guérison. Deux seulement ont eu un réveil de paludisme bref et discret. Pendant ce paludisme très bénin, et de courte durée, il n'y a pas eu aggravation des signes oculaires.

Commentaires.

1° *Influence de l'état de carence ou de subcarence sur le paludisme.*

Le paludisme n'a pas été aggravé par l'état de carence

ou de subcarence A. Même en tenant compte de la virulence plus faible de la souche de *Plasmodium* quand certaines de nos expériences ont été réalisées, nous pouvons affirmer que :

— les rats carencés ou subcarencés ont présenté une infection très bénigne et de très brève durée ; les échecs de l'inoculation ont été constatés dans une proportion plus grande que chez les rats normaux ;

— le réveil du paludisme après splénectomie n'a donné naissance qu'à une infection bénigne, ce qui n'est pas la règle chez les rats non carencés ;

— chez les rats guéris de l'infection aiguë, l'hématozoaire ne semble pas persister longtemps à l'état de parasite latent, puisque chez deux d'entre eux la splénectomie pratiquée un mois après guérison de l'infection première, il n'y a pas eu de réveil du paludisme.

2° *Influence du paludisme sur la carence.*

Par contre le paludisme a provoqué une légère aggravation de l'état de carence caractérisée, non par une modification de la courbe pondérale, mais par une accentuation des troubles oculaires ou par leur apparition plus précoce ; de plus ces troubles ont régressé lors de la guérison du paludisme.

Le paludisme peut donc aggraver les troubles oculaires de la carence vitaminique A ou révéler une carence latente, faits comparables à ceux que G. Mouriquand a observés dans la carence en vitamine C.

Cette influence du paludisme sur la carence ne doit pas nous surprendre puisque l'on connait les altérations hépatiques provoquées par ce paludisme et le rôle du foie dans le métabolisme de la vitamine A.

3° *L'action de la carence en vitamine A a été étudiée dans diverses infections, et nous emprunterons à une revue générale de* R. Robineaux, J. Lebrun-Pagès et A. Delaunay (58) *ce qui est relatif au paludisme des oiseaux.*

L'association morbide « Paludisme-carence en vitamine A » a déjà été étudiée chez le canard et le poussin. L'infection du canard soumis à un régime carencé en vitamine A par *Plasmodium lophurae* a été étudiée par Rigdon (55). D'après cet auteur, l'état de carence reste sans effet :

— sur le temps que met normalement l'infection pour atteindre son acmé ;

— sur le degré de parasitémie.

D'après Roos, Hegsted et Stare (59), l'avitaminose A chez le poussin infecté par *Plasmodium lophurae* élèverait quelque peu la résistance de l'hôte.

B) Parasitoses associées

1) *Bartonellose.*

Nous avons assisté chez 24 rats splénectomisés au réveil d'une bartonellose latente qui ne s'était pas manifestée lors de la primo-infection paludéenne. Après la splénectomie, les bartonelles apparurent dans le sang plus tôt que les hématozoaires, produisirent plus vite une infection globulaire intense, puis disparurent ou diminuèrent de nombre avant que les *plasmodium* aient atteint un taux élevé. Lorsqu'il y avait co-existense de *Plasmodium* et de Bartonelles, celles-ci parasitaient indifféremment les globules sains ou ceux déjà parasités par des hématozoaires.

Une fois, l'ablation de la rate ne provoqua qu'une sortie très peu abondante et transitoire de *plasmodium,* mais réveilla une bartonellose qui entraîna rapidement la mort. Il ne semble pas qu'il y ait de rapport, d'une part entre le réveil et la gravité de la bartonellose et, d'autre part, l'évolution de l'infection plasmodiale consécutive à la splénectomie.

2) *Trypanosomiase.*

Chez trois rats inoculés par voie intrapéritonéale avec du sang parasité, nous avons constaté au premier examen de sang, la présence de *Trypanosoma lewisi.* Ces trypanosomes semblaient s'accommoder de la parasitémie plasmodiale et l'infection palustre a suivi son cours normal. Les deux infections sanguines ont évolué sans influer l'une sur l'autre.

CHAPITRE VIII

L'IMMUNITE

I. Etude et caractères de l'immunité

Dans plus de la moitié des cas, les rats infectés guérissent et sont ensuite réfractaires à une réinoculation. 75 de nos animaux inoculés par des voies diverses ont eu une infection qui a abouti à une guérison clinique spontanée. Pour juger de l'immunité ainsi établie, nous avons recherché plusieurs jours après l'arrêt de l'infection aiguë, le pouvoir infectant du sang et l'évolution d'une réinoculation, car ces rats ne présentaient pas de rechute spontanée.

A) VIRULENCE DU SANG APRES GUERISON CLINIQUE SPONTANEE.

Le pouvoir infectant du sang, recherché chez 9 de ces rats, n'a été retrouvé que dans 3 cas (inoculation à la souris).

Rat 4

25/11/50	27	29	1/12	4	6	8	10	12	14	17	19	20	26	28	2/1	4
I.P.	1 ‰	5 %	5 %	20 %	60 %	50 %	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0

Le 19/12 contrôle de virulence sur souris = +
Le 2/1 contrôle de virulence sur souris = +

Rat 6

2/12/51	4	6	8	11	13	15	18	21	23	26	29	2/1	4
I.P.	0	2 %	5 %	50 %	60 %	50 %	1 ‰	1 ‰	0	0	0	0	0

Le 2/1 contrôle de virulence sur souris = +

Rat 11

7/12/51	8	11	13	15	18	21	23	26	28	2/1	4
I.P.	1 ‰	2 %	10 %	50 %	80 %	+	+	0	0	0	0

Le 2/1 contrôle de virulence sur souris = +

Pour les 6 autres rats (n°s 1, 7, 9, 12, 24, 25) la virulence du sang a été recherchée sans succès : 3, 15 et 30 jours après guérison clinique de l'infection première. Il peut donc y avoir après arrêt de l'infection aiguë, persistance de rares hématozoaires dans le sang, hématozoaires virulents pour un animal neuf, mais ne pouvant plus déterminer d'infection sanguine importante chez l'animal guéri.

B) REINOCULATION.

La réinoculation a été réalisée par injection dans le péritoine de sang parasité (à des doses qui infectaient des animaux témoins) selon la technique de routine servant pour l'entretien de la souche.

I. Nous avons d'abord réinoculé 10 rats guéris d'une infection forte (ayant eu au minimum 40 % d'hématies parasitées) avec des doses allant de 100.000 à 5.000.000 d'hématozoaires, un mois en moyenne après guérison clinique de l'infection première.

a) Chez 6 d'entre eux, cette réinoculation n'a fait apparaître aucun hématozoaire dans le sang. Les examens ont été poursuivis pendant 15 jours.

→ Réinoculé

Rat 9

6/12/50	8	13	21	27	2/1 23
I.P.	1 %	50 %	0	0	0 0 0 0 0 0

Rat R² (→ Réinoculé)

21/12/50	26	2/1	7	8 31
I.P.	1 %	40 %	+	0 0 0 0 0 0

Rat R³ (→ Réinoculé)

21/12/50	26	2/1	7	8 31
I.P.	2 %	40 %	0	0 0 0 0 0 0

b) Chez 3 autres, elle a abouti à une simple « sortie » d'hématozoaires dans le sang périphérique : apparition tardive (entre 9 et 13 jours) discrète et éphémère, donc sans rapport avec l'évolution d'une infection authentique.

Rat 1

25/11/50	1/12/50	6	11	18	19	21	23	26	29	2/1
I.D.	+	10 %	80 %	0	0	0	0	0	1 ‰	0

Rat 6 (→ Réinoculé)

2/12/50	6	11	15	18	26	29	2/1	4	7	9	11	13	15	17
I.P.	2 %	50 %	50 %	1 ‰	0	0	9	0	0	0	+	0	0	0

c) Chez le dixième rat, la réinoculation a fait apparaître dans le sang quelques hématozoaires, mais pendant 6 jours. L'intensité de l'infection sanguine n'a cependant pas été comparable à celle de la primo-infection.

Rat 11 (→ Réinoculé)

7/12/50	11	18	23	26	29	2/1	4	7	9	11	13	15	17	19.... 27
I.P.	2 %	80 %	+	0	0	0	0	0	0	0	+	+	+	0 0 0 0 0

II. Pratiquée chez 8 rats guéris d'une infection faible, la réinoculation n'a provoqué aucune « sortie » d'hématozoaires.

→ Réinoculé (200.000 P.L.)

Rat 22	16/2/51	20	22	27	3/3	5	6	7	20	22	23	24	27	31
	I.P.	2 %	4 %	1 %	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0

→ Réinoculé (200.000 P.L.)

Rat 28	16/2/51	20	22	27	1/3	4	6	20	22	23	24	27	31
	I.P.	2 %	6 %	5 %	2 %	0	0	0	0	0	0	0	

III. Le rat n° 1 chez lequel nous avions eu une « sortie » de quelques hématozoaires après une première réinoculation n'a rien présenté à la suite d'une seconde faite 20 jours après.

→ Réinoculé → Réinoculé

Rat 1	25/11/50	1/12	6	11	18	19....26	29	2/1	4.....18
	I.D.	+	10 %	80 %	0	0 0 0 0 0	1 ‰	0	000000

IV. Un autre rat a été réinoculé 15 jours après une première réinoculation négative. Ce n'est que quatre semaines plus tard que nous avons vu un hématozoaire sur un frottis de sang. Une troisième réinoculation pratiquée deux mois après la première, n'a provoqué aucune parasitémie.

										→ Réinoculé			
									→ Réinoculé		→ Réinoc.		
Rat 4	25/11/50	27	4/1	8	10	12..17	19..2/1	4...26	29	31-12/2	13 .27		
	I.P.	1 ‰	20 %	50 %	0	0 0 0 0	0 0000	0 0000	+	0000	0000		

C) LES EPREUVES D'INOCULATIONS MASSIVES.

Nous venons de voir que lorsqu'un rat a présenté une infection spontanément curable, il devient pratiquement réfractaire à une réinoculation. Quelle qu'ait été la gravité de l'infection première, la réinoculation n'a jamais été suivie d'infection sanguine manifeste. C'est pourquoi R. Vargues et G. Fabiani ont employé la technique d'inoculations massives intracardiaque et intrapéritonéale pour étudier le devenir des parasites de réinoculation.

1° *Réinoculation intracardiaque massive* (R. Vargues et G. Fabiani (81).

Première série d'expériences :

Trois rats (n^{os} 78, 93 et 107), guéris respectivement d'une infection sévère depuis cinq semaines, trois semaines et deux jours, reçoivent dans le cœur 500.000.000 d'hématies parasitées. Le sang inoculé provient du rat 137 dont 50 % des hématies renferment des hématozoaires et sont polychromatophiles, hypertrophiées et pour la plupart multiparasitées. Dès la fin de l'injection, on trouve dans le sang périphérique de ces trois rats un *Plasmodium* pour 500 globules rouges. Dans les heures qui suivent, ce taux décroît. Vingt-quatre heures après, les hématies parasitées inoculées ont complètement disparu du sang circulant. Mais chez les trois animaux, il y a des hématies acidophiles, de petite taille, renfermant un trophozoïte jeune : leur taux est de 1 pour 1.000 hématies chez les rats 78 et 93 et 1 pour 200 chez le rat 107. Ces parasites persistent encore les jours suivants et disparaissent à la soixante-douzième heure (rat 93) ou à la centième heure (rats 78 et 107).

Deuxième série d'expériences :

Quatre rats, (n^{os} 85, 111, 118 et 143), reçoivent dans les mêmes conditions 100.000.000 d'hématies parasitées. A la suite de l'inoculation, on trouve, dans le sang de la queue, une hématie parasitée inoculée pour 3.000 globules rouges. Le sang examiné toutes les deux heures montre une chute progressive du nombre des parasites inoculés, chute telle que chez le rat 143 aucun parasite ne peut être décelé à la neuvième heure. Vingt-quatre heures après, chez les quatre animaux, les parasites du donneur ont disparu ; par contre, ces rats présentent tous des globules rouges acidophiles monoparasités aux taux suivants : 1/12.000 chez le rat 85, 1/1.000 chez le rat 111, 1/1.000 chez le rat 118 et 1/8.000 chez le rat 143. Ces parasites de nouvelle génération disparaissent totalement du sang circulant en quarante-huit heures (rat 143), soixante-douze heures (rat 85) ou cent heures (rat 111). Le rat 118 a été splénectomisé et a eu une évolution différente.

Les résultats de cette deuxième série d'expériences sont donc comparables à ceux de la première, mais l'immunité était plus forte. En même temps que ces quatre animaux, le rat 146 a été inoculé avec la même quantité de sang, mais l'injection a dû être faite dans le péricarde ou le médiastin, car on n'a pas retrouvé dans le sang de la queue les hématozoaires inoculés ; cet animal n'a pas présenté de formes de nouvelle génération ; il s'est donc comporté, malgré l'inoculat massif (100.000.000 de parasites) comme un animal fortement immunisé. La troisième série d'expériences peut donner une explication de ce fait.

Troisième série d'expériences :

Trois semaines après la première réinoculation rapportée plus haut, les rats 78, 93 et 107 sont de nouveau éprouvés par l'inoculation intracardiaque et reçoivent dans le cœur 250.000.000 de *Plasmodium*. La densité d'hématies parasitées provenant de l'inoculat est de 1/1.000 sitôt après l'inoculation. Chez ces trois animaux, tous les parasites inoculés ont disparu du sang circulant à la neuvième heure. A la vingt-quatrième heure, le rat 107 montre, à l'examen de tout un frottis de sang, un seul globule rouge acidophile monopara-

sité. On ne trouve plus d'hématozoaires à la trente-sixième heure. Chez les rats 78 et 93, on ne décèle aucun développement parasitaire, alors que les examens sont répétés pendant sept jours.

Dans les deux premières séries d'expériences, sur huit animaux, sept ont eu après vingt-quatre heures des hématies acidophiles monoparasitées, hématies différentes de celles qui avaient été inoculées ; le huitième animal (n° 146) n'a rien présenté, l'inoculation n'ayant pas été faite dans la circulation. Dans la troisième série d'expériences (animaux hyperimmunisés) les parasites inoculés dans le cœur sont bien passés dans la circulation ; mais il n'a pas été vu ensuite de trophozoïtes jeunes. Ces observations suggèrent que les parasites qui ont pu être observés vingt-quatre heures après l'inoculation sont les descendants directs des parasites inoculés.

La question se posait cependant de savoir si ces parasites présents dans les hématies de l'animal « receveur » vingt-quatre heures après la réinoculation n'étaient pas, au contraire, des parasites latents chez l'animal « receveur ». Aussi avons-nous fait l'expérience de contrôle suivante :

Le rat 83 (guéri depuis deux mois), les rats 150 et 154 (guéris depuis dix jours) et le rat 159 (guéri depuis cinq jours) reçoivent dans le cœur 1/2 cc. de sang de rat normal (soit 4.450.000.000 de globules rouges). Leur sang est examiné 24, 48, 72 heures après. Les rats 83, 154 et 159 n'ont aucune « sortie » de parasites latents. Seul, le rat 150 présente 24 heures après l'injection, 1 parasite tous les 50 champs microscopiques. Ce qui prouve qu'une transfusion sanguine peut déterminer, dans quelques cas, le réveil d'un microbisme latent. Cependant, le résultat négatif des trois autres animaux, les nombreuses ponctions cardiaques pour prélèvement de sang que nous avons pratiquées (ce qui détermine souvent un hémo-péricarde ou un hémo-médiastin sans qu'il y ait pour cela réveil de paludisme) nous permettent d'affirmer que, dans la majorité des cas, les hématozoaires observés 24 heures après une réinoculation intracardiaque massive, sont les descendants directs des *Plasmodium* de réinoculation et non pas des parasites de « sortie ».

2° *Réinoculation intrapéritonéale massive* (G. Fabiani et R. Vargues (25).

Première série d'expériences :

Cette épreuve a été réalisée chez les trois rats immuns (n°s 61, 159 et 170) guéris d'une infection première, à qui on a injecté des quantités très importantes d'hématozoaires (61 = 820.000.000, 159 = 360.000.000, 170 = 520.000.000).

Les hématies polychromatophiles parasitées apparaissent dans le sang circulant au cours de la première heure qui suit l'injection intrapéritonéale. Leur nombre croît jusqu'à la dixième heure, puis décroît et on ne les retrouve plus 24 heures plus tard. Dès la troisième heure aussi, une nouvelle génération plasmodiale apparaît, parasitant les hématies de l'animal « receveur » ; ces hématozoaires ne sont pas nombreux puisqu'ils n'atteignent que la proportion de 3 ou 4 pour 1.000 hématies normales, et ils disparaissent en 48 heures.

Deuxième série d'expériences :

Cette épreuve a été répétée chez quatre rats dont l'immunité consécutive à l'infection première avait été ensuite renforcée par injection de quantités importantes de parasites.

Le rat 159, étudié dans la série précédente et dont l'immunité avait été renforcée par cette épreuve même, n'a présenté dans le sang qu'un nombre très faible d'hématies polychromatophiles parasitées, de la première à la sixième heure ; il est apparu de très rares trophozoïtes jeunes (moins de 1/10.000 G.R.) dans les hématies de ce rat, et ils n'ont été observés qu'à la troisième et à la sixième heure.

Chez le rat 78, on ne décela que de rares hématozoaires, provenant du « donneur » de la première à la quinzième heure, mais il n'y eut aucune multiplication de parasites.

Enfin, chez les rats 93 et 107, on ne put jamais mettre en évidence la présence d'hématies parasitées dans le sang circulant.

Ces deux épreuves de « Réinoculation massive » nous montrent donc que les animaux guéris d'une primo-infection sont réfractaires à une nouvelle inoculation. Cependant, cet état réfractaire présente des degrés : lors d'une première réinoculation, les parasites réinoculés se développent plus ou moins pendant deux à quatre jours dans les hématies de l'animal « receveur », puis disparaissent ; lors d'une seconde réinoculation (animaux hyper-immuns) aucun développement n'a lieu.

Nous avons ainsi une possibilité d'apprécier, de façon précise, les différents degrés de résistance acquise de l'organisme et, puisque l'on connait la quantité de parasites injectés et celle qui est présente dans le sang, d'obtenir des courbes de parasitémie traduisant la plus ou moins grande résistance de l'animal.

D) PERSISTANCE ET REVEIL DE L'INFECTION PLASMODIALE.

Fait bien connu dans les infections à *Plasmodium,* il y a persistance, après l'infection aiguë intense, d'une infection latente métacritique, selon l'expression d'Ed. Sergent.

Cette infection entraîne un état de prémunition, c'est-à-dire d'immunité relative qui s'oppose à « l'immunité vraie stérilisante » apparue à la suite de certaines maladies infectieuses et où il y a disparition complète de l'agent causal. Différents facteurs, comme la suppression de la rate, peuvent perturber cet équlibre instable entre l'hôte et le parasite et provoquer un réveil de l'infection. Il était donc logique d'étudier l'action de la splénectomie.

I. Ablation de la rate.

Nos premiers résultats portant sur 15 rats ont été rapportés à la Société de biologie d'Alger dans une note présentée en collaboration avec G. Fabiani, R. Vargues et Mlle Clausse (18).

1° Notre étude a porté tout d'abord sur l'influence de la splénectomie sur 31 rats ayant présenté une guérison clinique spontanée de leur primo-infection. L'ablation de la rate a été pratiquée après un délai de quelques jours à trois mois après la fin de l'infection aiguë.

On a contrôlé au moment de la splénectomie, que le sang périphérique ne contenait pas de *Plasmodium* ou n'avait pas de pouvoir infectant pour la souris.

Trois éventualités ont été observées :

a) Chez 19 rats, réveil d'une infection sévère qui fut mortelle pour 17 d'entre eux.

Les 2 rats ayant survécu (n°s 6 et 51) ont eu respectivement un maximum de 20 et 8 % de leurs globules parasités. On a noté chez eux, une infection sanguine faible et irrégulière persistant longtemps après la fin de la période d'infection sanguine intense qui suit la splénectomie. Une telle évolution a déjà été notée dans d'autres maladies à prémunition, après ablation de la rate. C'est ainsi que Sergent, Parrot, Donatien et Lestoquard ont vu que, chez un animal en état d'infection latente à *Piroplasma bigeminum*, la splénectomie produit un violent accès aigu, qui est suivi de nombreuses petites rechutes parasitaires.

Le temps de latence fut variable (de deux à dix jours).

Au cours de cette maladie splénoprive, on remarqua deux particularités que nous n'avions pas observées dans l'infection première du rat neuf : dans 11 cas, persistance pendant plusieurs jours de rares hématozoaires dans le sang sans que leur nombre augmente de façon appréciable, mais, dans tous les cas, dès que le parasitisme des hématies est devenu important, la maladie a eu une évolution très courte.

Rat 6 → Réinoculé → Splénect.

2/12/50	6	13	23	2/1	11	13	15	17	18	19	22	24	26	29	31	3/2	5	7	9	12	14
I.P.	2 %	60 %	0	0	+	0	0	0	0	0	+	0	+	2 %	+	0	0	+	+	0	0

Rat 51 → Splénect.

20/3/51	29	2/4	6	9	11	13	19	21	22	23	25	27	30	2/5	4	7	11	15	17
I.P.	2 %	8 %	2 %	0	0	0	0	+	2 %	18 %	6 %	+	2 %	+	+	+	+	+	0

Rat 4

→ Splénect.

25/11/50	27	1/12	6	10	12	...	27/2	1/3	2	5	7	10	12	13
I.P.	1 ‰	5 %	60 %	0	0		0	0	0	+	+	+	60 %	θ

Rat 7

→ Splénect.

2/12/50	11	15	18	21	23	.....	23/1/51	26	29	31	1/2
I.D.	10 %	70 %	+	0	0	0 0 0 0 0 0 0		0	+	50 %	θ

b) 4 rats n'eurent après quelques jours qu'une simple « sortie » très discrète et brève de quelques hématies parasitées.

c) 8 autres n'eurent pas de réveil d'infection paludéenne. 6 d'entre eux avaient été réinoculés avant la splénectomie, sans avoir présenté du reste la moindre « sortie » d'hématozoaires. Le rat 9 qui n'avait pas eu de réveil après splénectomie, a fait lors d'une réinoculation, une infection comparable à celle des rats 6 et 51.

Rat 9

→ Réinoculé

→ Splénect.

→ Réinoculé

6/12/50	8	13	21	2/1/51	22	23/1	3/2	14	16	19	21	23
I.P.	1 %	50 %	0	0	00000	0	0000	0	0	0	+	20 %

26	28	1/3	2	5	7	10	12	29	31	2/4	4	5	7	9	11
5 %	0	0	+	1 %	1 %	+	+	+	+	+	1 %	1 %	1 %	+	0

2° Sur ces 31 animaux, 19 furent réinoculés avant la splénectomie ; l'infection sanguine consécutive à la splénectomie n'a été intense que neuf fois (8 rats sont morts). Sur les 12 qui ne furent pas réinoculés, 10 ont eu un réveil de leur infection, 9 en sont morts. Le poids ne nous a pas semblé influer sur l'évolution de cette infection.

3° Il faut enfin noter que chez 24 rats, on assista à un réveil d'une *bartonellose latente* qui ne s'était pas manifestée lors de la primo-infection paludéenne.

4° Le paludisme du rat est donc souvent réveillé par l'ablation de la rate, fait déjà affirmé en 1950 et 1951 par Galliard et Lapierre.

Dans 17 de nos cas, la splénectomie produisit une infection mortelle. Cette constatation montre là encore, le rôle de la rate dans l'infection palustre, ce que de nombreux faits de pathologie humaine ou animale ont déjà fait connaître.

Les 8 rats guéris spontanément suggèrent la possibilité d'une guérison spontanée totale, avec disparition des parasites et immunité consécutive, puisque ces animaux ont pu supporter, ensuite, réinoculation et splénectomie, sans présenter d'hématozoaires dans le sang. Mais il faut émettre la réserve qu'il y a peut-être eu une parasitémie très légère et trop brève pour être décelée, et surtout qu'il aurait fallu pratiquer une surrénalectomie, comme le montrent les recherches suivantes.

II. Ablation des surrénales.

L'atteinte des surrénales souvent décrites dans le paludisme humain et, d'autre part, le rôle de plus en plus souligné de ces glandes endocrines dans les phénomènes d'immunité nous a incité à étudier avec G. Fabiani et Mlle M.-A. Izzo, la participation surrénalienne dans ce paludisme expérimental du rat blanc à *Plasmodium berghei* (24).

Nous avons ainsi recherché l'action sur ce paludisme latent, de l'ablation des surrénales, isolée et consécutive à une splénectomie. En poursuivant ces recherches, nous avons aussi été amenés à étudier l'effet de la surrénalectomie sur une autre parasitose sanguine des rongeurs : l'infection des

hématies par *Bartonella muris*. Cette bartonellose est très fréquente chez les rats, déterminant une infection latente et un état de prémunition comparable à celui du paludisme ; aussi la spénectomie réveille-t-elle bien souvent une infection à bartonelles jusque là ignorée.

1° *Insuffisance de la surrénalectomie d'emblée.*

La surrénalectomie bilatérale d'emblée a été pratiquée chez cinq rats guéris d'une infection à *Plasmodium berghei* depuis un délai s'étendant de une semaine à trois mois.

a) Trois rats ont subi une surrénalectomie et n'ont pas reçu d'injection d'acétate de désoxycorticostérone.

Le premier, primo-infecté en janvier, réinoculé en mars (échec de la réinoculation comme il est classique) est surrénalectomisé en avril ; la mort survient en 7 jours, sans que l'animal ait présenté d'hématozoaires ou de bartonelles dans le sang. Un autre rat subit l'ablation des surrénales 8 jours après la guérison de l'infection palustre : il meurt en 2 jours, sans réveil de paludisme ni de bartonellose. Par contre, le troisième, surrénalectomisé aussi une semaine après la guérison du paludisme, présente en 48 heures des hématozoaires dans le sang. Ceux-ci persistent encore le lendemain quand la mort se produit.

La surrénalectomie peut donc réactiver un paludisme latent, mais ce réveil n'est pas constant ; elle n'entraîne pas de réveil de bartonellose, comme Mamorston-Gottesman et Perla l'avaient déjà constaté (47).

b) Deux rats ont reçu, dès le jour de la surrénalectomie, des injections quotidiennes de 0,5 mgs d'acétate de désoxycorticostérone. Ils n'ont présenté alors aucun réveil ni de paludisme ni de bartonellose. Ayant survécu grâce à la médication hormonale, ils ont pu être splénectomisés 14 jours après la surrénalectomie. L'un de ces rats est mort en 48 heures, donc trop tôt pour que les hématozoaires puissent apparaître dans le sang. Mais le deuxième rat a présenté, 8 jours après l'ablation de la rate, une infection plasmodiale sévère qui a entraîné la mort en 4 jours. Donc, dans ce cas, la surrénalectomie n'avait pas réveillé un paludisme latent qui a été réactivé par une splénectomie ultérieure.

2° *Influence de la surrénalectomie consécutive à la splénectomie.*

2 rats, guéris d'une infection palustre, ont subi d'abord l'ablation de la rate puis des surrénales. Le premier rat présenta un réveil de paludisme après splénectomie et, quand on enleva les surrénales deux mois plus tard, un nouveau réveil de paludisme en 48 heures. Le deuxième rat, chez qui la splénectomie avait provoqué une brève « sortie » d'hématozoaires et de bartonelles eut, sous l'influence de la surrénalectomie, un réveil de paludisme et de bartonellose.

Enfin, 3 animaux non impaludés furent splénectomisés : tous les trois présentèrent alors une bartonellose importante qui guérit ; la surrénalectomie, pratiquée deux semaines plus tard, produisit un réveil de la bartonellose chez deux d'entre eux.

La surrénalectomie peut donc provoquer le réveil d'une infection latente à *Plasmodium* ou à *Bartonelles,* mais cet effet, qui est rare quand la rate est présente, se produit plus régulièrement quand la rate a été précédemment enlevée.

Ces observations montrent un aspect nouveau du rôle des surrénales dans l'immunité : leur intervention dans le cas de prémunition.

III. Les autres facteurs de réveil.

a) *L'adrénaline.*

Il est de notion bien établie que l'injection d'adrénaline provoque une contraction de la rate et amène parfois (moins souvent qu'on ne l'a d'abord pensé) une « sortie » d'hématozoaires et un accès fébrile.

Nous avons injecté à 4 rats guéris respectivement depuis 7, 5, 14 et 6 jours, 0,05 mgrs de chlorydrate d'adrénaline sous-cutanée.

Chez un seul d'entre eux, après trois-quart d'heure, nous avons constaté l'apparition de quelques *plasmodium* dans le sang, apparition très brève puisque le lendemain, l'examen de sang était redevenu négatif.

b) Caisson à dépression.

Grâce à l'obligeance de M. le Professeur Malmejac, nous avons pu étudier au Laboratoire de physiologie de la Faculté de Médecine d'Alger, l'effet d'une altitude élevée sur 6 rats infectés et guéris.

	→ Date de la mise au caisson :	
Rat 52	— 1 mois	après guérison de leur primo-infection.
Rat 55		
Rat 78	— 20 jours	
Rat 93	— 7 jours	
Rat 105	— 8 jours	
Rat 120	— 3 jours	

Ils ont été mis au caisson à dépression 4 jours consécutifs pendant 4 heures à une dépression correspondant :

— le 16/5/51, à 7.500 mètres ;
— le 17 » à 8.000 mètres ;
— le 18 » à 8.500 mètres ;
— le 19 » à 9.000 mètres.

Des examens de sang ont été faits immédiatement après la sortie du caisson et dans les jours qui ont suivi : il n'a pas été constaté d'hématozoaires dans le sang.

Ces résultats ne doivent pas surprendre : les travaux de MM. Malmejac et Gross ont montré qu'il se produit une spléno-contraction lors de la dépression barométrique. Et nous avons vu précédemment que la spléno-contraction adrénalinique ne produit guère de « sortie » d'hématozoaires.

D'autre part, C.D. Howe et F.L. Duff ont étudié chez 50 paludéens, l'influence d'une baisse de pression barométrique (correspondant à une altitude de 6.000 mètres) et n'ont observé aucune action sur l'évolution des parasites, ni sur la fréquence des accès (37).

c) Sérum hémolytique antirat.

En 1945, Anigstein et Pomerat constatèrent que l'injection intrapéritonéale de 1 cc. de sérum cytotoxique anti-réticulaire antirat (sérum correspondant au sérum de Bogomoletz) produisait le développement d'une bartonellose comme le fait la splénectomie.

T.B. Thomas, C.M. Pomerat et E.H. Frieden (72) ont étudié l'effet d'un sérum hémolytique antirat et ont constaté que bien que l'injection de ce sérum produise une anémie chez le rat, il n'apparaît pas de bartonellose et ils supposent que ce sérum, à la différence du sérum cytotoxique antiréticulaire, ne produit pas de blocage du système réticulo-endothélial.

Nous n'avons pu préparer de sérum antiréticulaire, mais nous avons préparé un sérum hémolytique en injectant des globules de rat à un lapin.

Quand le sérum de cet animal a possédé un pouvoir hémolytique élevé, nous l'avons injecté intrapéritonéal à la dose de 1/10 de cc. à trois rats guéris de leur infection respectivement depuis 13, 11 et 11 jours. Deux jours après, nous constations chez deux d'entre eux, une forte anisocytose et la présence d'hématies polychromatophiles et d'érythroblastes. Cette anisocytose s'est atténuée pour disparaître dans les quatre jours qui ont suivi, de même que les érythroblastes et les hématies polychromatophiles, sans que nous apercevions un seul hématozoaire.

Chez le troisième, par contre, l'anisocytose paraîssait plus intense et cinq jours après l'injection de sérum hémolytique, nous avons eu une « sortie » de quelques hématozoaires. Le lendemain, nous avions une proportion de 1 hématie parasitée pour 100 globules rouges. Puis, tout est rentré dans l'ordre et les examens ultérieurs ont été négatifs. Notons que chez ce rat nous n'avons vu, ni érythroblastes, ni hématies polychromatophiles.

d) Hémothérapie.

P. Mollaret et J. Schneider ont montré que l'auto-hémothérapie pouvait réveiller des accès au cours du paludisme thérapeutique (50). Nous avons de même essayé l'injection de sang chez le rat guéri d'une infection première, injection dans le péritoine de 1 cc. de sang d'un autre rat non impaludé. Cette technique essayée chez un rat en fin d'infection, alors qu'il n'avait que de rares hématozoaires dans le sang, a provoqué un réveil éphémère, mais très rapide : 15 minutes après l'injection intrapéritonéale, il y avait déjà une nette augmen-

tation du nombre des hématozoaires, mais après une heure, cette proportion avait déjà baissé.

Nous avons vu précédemment que quatre rats (n°s 83, 150, 154 et 159) avaient reçu dans le cœur 1/2 cc. de sang d'un rat neuf et que l'un d'eux (le n° 150) avait présenté 24 heures après l'injection, 1 parasite tous les 50 champs microscopiques.

e) Gestation - Mise bas - Allaitement.

Nous n'avons jamais constaté de réveil du paludisme chez les femelles prémunies, ni lors de la gestation, ni après la mise bas, ni pendant l'allaitement.

II. Nature de l'immunité

1° *La prémunition.*

Nos expériences de splénectomie et de surrénalectomie démontrent l'apparition d'un état de prémunition au cours de l'infection du rat par *Plasmodium berghei.* L'infection latente métacritique avait déjà été mise en évidence par les observations de Ed. Sergent et Mme A. Poncet qui signalaient, chez quatre rats, après la période d'infection sanguine intense, l'apparition épisodique et discrète de *Plasmodium* dans le sang, et nous avons vu que Galliard et Lapierre ont réveillé un parasitisme latent par la splénectomie. Ici, nous avons pu démontrer et la résistance à la réinfection après guérison clinique de la primo-infection et le réveil ultérieur, par splénectomie, d'une infection latente qui devient souvent sévère et même mortelle.

Ce type d'immunité qui consiste en un état réfractaire de l'organisme contemporain de l'infection correspond bien à la définition de la prémunition telle que l'a établie Ed. Sergent. En effet, dans les maladies à prémunition, une fois la période aiguë de l'infection terminée, « la maladie, au sens clinique du mot, cesse : l'infection continue, mais sous forme latente ». C'est « l'infection latente métacritique ».

« La présence permanente dans l'intimité des tissus et des humeurs d'un microbe dépourvu de virulence entraîne une conséquence heureuse : l'infection latente se transforme

en une sorte de symbiose. L'organisme résiste à l'agression d'autres microbes de même espèce, tant que dure l'infection latente des microbes de primo-infection. C'est la « loi de préséance ». L'existence dans l'organisme de microbes vivants tolérés empêche donc une surinfection par d'autres microbes de même nature ».

« La prémunition a pour premier caractère la résistance d'un organisme en état d'infection latente contre une surinfection, résistance qui est complète ou seulement partielle. La prémunition a un second caractère : lorsque l'infection latente a cessé, l'organisme est sans défense contre la réinfection ».

« Le microbe qui végète à l'état latent au cours du stade métacritique peut, sous certaines influences, redevenir patent. L'infection latente redevient une maladie infectieuse. On assiste à un accès de rechute » (64).

2° *L'immunité vraie.*

Les 8 rats guéris spontanément, ayant subi une réinoculation sans apparition d'hématozoaires dans le sang et n'ayant pas présenté de réveil d'infection par splénectomie suggèrent l'hypothèse d'une guérison totale, avec disparition des hématozoaires de l'organisme, mais s'accompagnant d'une résistance aux réinfections. Il s'agirait donc d'une « immunité vraie stérilisante », au sens où l'entend Ed. Sergent (67).

Avant d'admettre une pareille explication, il faut la discuter. D'abord, parce qu'il faut toujours penser à l'éventualité d'une parasitémie éphémère et discrète après splénectomie, donc passée inaperçue ; cette hypothèse ne semble pas vraisemblable, parce que le réveil qui suit l'ablation de la rate se manifeste de façon intense et jamais légère.

Ensuite, le réveil possible par surrénalectomie alors que la splénectomie n'a pas réveillé l'infection latente montre qu'on ne peut parler avec certitude de disparition des parasites que si l'on a fait subir cette double expérience à un animal. Deux de nos rats (n°s 84 et 93) répondent à ces exigences : nous n'avons pas constaté d'hématozoaires dans le sang, ni après ablation de la rate, ni après ablation des surrénales.

Enfin, il faudrait constater que la réinfection qui échoue est celle qui est faite non pas avant l'ablation de la rate, mais celle qui est pratiquée chez un animal anciennement infecté, guéri et ensuite splénectomisé et surrénalectomisé. Car, si l'ablation de la rate ne réveille pas le paludisme, c'est que peut-être la réinoculation antérieure a renforcé l'immunité au point d'aboutir à la destruction totale des *Plasmodium*.

Pour ces raisons, l'immunité vraie après disparition des hématozoaires nous apparaît comme probable dans certains cas, mais non démontrée avec certitude.

Cette hypothèse d'une immunité acquise persistant après disparition des parasites ne serait pas sans précédent dans le cas d'infection plasmodiale puisque Coggeshall, puis Maier et Coggeshall ont vu qu'elle pouvait durer 3 à 14 mois après stérilisation complète de l'infection (6 et 46).

III. Mécanisme de l'immunité

Nous ne discuterons pas les différentes explications de l'immunité dans le paludisme. De nombreux travaux y ont été consacrés et se trouvent résumés dans une mise au point récente de Taliaferro (71). Nous ne citerons que les observations que nous avons pu faire.

I. Phagocytose.

L'intervention d'un processus phagocytaire est importante. On observe constamment dans le foie surtout et aussi dans les poumons, la rate, la moelle osseuse, de très nombreuses images de phagocytose : macrophages ayant englobé des hématozoaires à divers stades de leur développement : trophozoïtes jeunes, schizontes, rosaces. Il n'est pas rare d'observer plusieurs hématozoaires de même âge ou d'âge différent dans le protoplasme d'une cellule phagocytaire. On observe aussi des hématies phagocytées dans ces mêmes cellules. Mais il est exceptionnel de voir des hématies parasitées à l'intérieur des macrophages : on voit très souvent dans une cellule phagocytaire des hématozoaires libres ou des hématies non parasitées ou les deux, mais nous n'avons vu que deux fois l'image de phagocytose d'hématies contenant des *Plas-*

modium. Ce mécanisme phagocytaire intervient très tôt. Il est toujours important quand la maladie a évolué pendant quelques jours.

II. Mécanisme humoral.

Dans les formes spontanément curables de l'infection du rat blanc par *Plasmodium berghei*, la guérison est brutale et a l'allure d'une véritable *crise :* alors que vers le dixième jour qui suit l'apparition des hématozoaires dans le sang, ces parasites sont très nombreux (50 à 80 % des hématies sont parasitées et même multi-parasitées) ; brusquement, en deux jours, les hématozoaires disparaissent complètement. Ce phénomène que nous trouvons déjà signalé dans les observations de Ed. Sergent et Mme A. Poncet (66) doit être rapproché des constatations faites par Taliaferro (69) chez des singes infectés par des *Plasmodium*.

Une telle crise, survenant 10 à 15 jours après le début de la maladie incite à rechercher dans quelle mesure des facteurs humoraux participent à la guérison. Appliquant au paludisme du rat les méthodes qui lui avaient servi dans le paludisme humain, R. Vargues (78), au Laboratoire de bactériologie de la Faculté de Médecine d'Alger, a étudié le taux alexique à différentes périodes de l'infection du rat et a recherché la présence d'anticorps spécifiques démontrables par la réaction de fixation du complément.

1° *Modification de l'alexine du sérum.*

Technique : « De même que chez l'homme, afin d'éviter le le facteur gênant d'hémolysines naturelles, nous avions dosé l'alexine en présence de sérum antihumain, nous avons commencé par préparer un sérum antiglobules rouges de rat. Nos lapins possédaient des hémolysines antirat naturelles ; par des injections intraveineuses d'hématies de rat, nous avons élevé le taux de ces hémolysines et obtenu un sérum actif pour une dilution du 1/256 ».

« Pour effectuer un dosage, étant donné que la quantité de sérum obtenue (par section de la queue de l'animal), est faible, nous ne faisons qu'un seul tube de réaction : 0,1 cc. de sérum frais de rat est mélangé à 0,1 cc. de sérum hémolytique dilué au 1/20 et à 0,2 cc. de globules rouges de rat (suspension à 2 p. 100 du culot) ; nous complétons avec 0,6 cc. d'eau physiologique. Après une demi-heure d'étuve à 37°, le tube est comparé à une gamme faite avec des dilutions de sérum de rat normal ».

« Au cours de l'infection, le taux d'alexine diminue légèrement chez les rats qui évoluent vers la guérison. Au contraire, dans la phase agonique, l'alexine disparaît presque complètement. A la mort, quand celle-ci se produit alors que l'infection est à son maximum, le taux alexique est nul ».

« Nous retrouvons donc, chez le rat, les mêmes observations que nous avions faites chez l'homme dans les cas de coma pernicieux à *Pl. falciparum* ».

2° *Présence d'anticorps spécifiques fixant le complément.*

La recherche de sensibilisatrice par la réaction du complément fut appliquée au paludisme humain dès 1919 par Thomson (73), mais c'est seulement à partir de 1938 que cette réaction commence à entrer dans la pratique avec les travaux de Coggeshall et Eaton (7). Dulaney (15), Kligler (41), Lippincott (45) et leurs collaborateurs montrent ensuite tout l'intérêt de la fixation du complément dans le paludisme.

Cependant, ces recherches se trouvent limitées par les difficultés d'obtention des antigènes humains ou simiens utilisés par ces chercheurs. Aussi, R. Vargues (78), a-t-il étudié des réactions sérologiques semblables dans l'infection expérimentale du rat par *Plasmodium berghei :*

Technique :

« Pour mettre en évidence ces anticorps, nous avons employé une technique dérivée de celle de Kolmer.

L'antigène employé est un extrait de foie de rat, car cet organe est de tous le plus riche en parasites. On prélève le foie d'un animal agonisant. Ce foie est soumis à un début d'autolyse par séjour en glacière pendant 4 à 5 jours. Puis il est finement broyé en présence de 0 gr. 9 de ClNa ; l'hypertonie libérant les liquides cellulaires. 4 heures après le broyage et l'addition de sel, on ajoute 100 cc. d'eau distillée afin de ramener la suspension à l'isotonie. On laisse reposer la suspension à la glacière pendant quelques jours, puis on centrifuge pendant 2 heures à 3.000 t./m. Le liquide surnageant est limpide. C'est ce liquide qui sert d'antigène.

La réaction est effectuée ainsi : dans un tube on mélange 0,1 cc. du sérum à tester chauffé à 56°, 0,2 cc. d'antigène, 0,1 cc. d'alexine de cobaye diluée au 1/10e et 0,3 cc. d'eau physiologique. On fait un tube témoin-sérum pour éliminer les sérums anticomplémentaires, et 5 tubes identiques à ceux de la réaction contenant du sérum de rat normal. Les tubes sont mis en glacière pendant 16 heures. Après

quoi, à l'aide des 5 tubes contenant du sérum normal on détermine le titre de sérum hémolytique à employer. Le titre déterminé, on ajoute aux tubes de réaction 0,1 cc. de sérum hémolytique à la dilution convenable et 0,2 cc. de suspension globulaire. La réaction est lue après une demi-heure d'étuve à 37°. »

« 40 réactions ont été faites selon cette méthode et ont donné les résultats suivants : la sensibilisatrice existe chez tous les rats en fin d'infection : son taux est plus faible chez les animaux qui évolueront vers la mort. Après guérison, le sérum des rats, en présence d'antigène, fixe fortement le complément. Un mois après guérison, le taux de sensibilisatrice commence à diminuer ».

3° *Variations quantitatives de ces modifications humorales au cours de la maladie.*

Dans une note ultéricure, R. Vargues, G. Fabiani et G. Fulchiron (79) ont étudié les variations quantitatives de la sensibilisatrice et de l'alexine au cours de la maladie.

Technique :

« La technique employée a été celle précédemment décrite mais avec de légères modifications.

Les variations quantitatives sont étudiées sur des lots de 10 à 15 rats. Dans chaque lot, les animaux de même poids reçoivent par voie intrapéritonéale un nombre égal de parasites selon le procédé que nous avons proposé. On suit la courbe d'infection sanguine et, tous les deux jours, on sacrifie deux animaux du lot. Ces animaux, saignés à blanc, fournissent 1 à 3 cc. de sérum.

Le pouvoir alexique est déterminé par la plus petite quantité de sérum frais qui provoque l'hémolyse totale du système globules rouges de rat-sérum hémolytique ; dans ce tube existe au moins une unité alexique ; on calcule le nombre d'unités par cc. de sérum.

Le taux des anticorps est déterminé selon la technique de Kolmer (fixation à froid), combinée à un dosage indirect du complément. L'antigène, constitué par une suspension aqueuse de broyat de foie, très riche en parasites, n'a pu encore être dosé par manque de quantités suffisantes d'immum-sérum servant d'étalon. Cependant à l'usage, les différentes préparations que nous avons faites se sont révélées d'égale puissance antigéniques lorsqu'elles étaient testées avec les mêmes sérums. Des quantités de 0,2 cc. d'antigène sont mises en présence d'alexine et de dilutions diverses du sérum étudié. Ces dilutions s'échelonnent entre 1/2 et 1/128. La dilution la plus faible empêchant toute hémolyse indique la richesse en anticorps. »

Résultats.

1°) Variations humorales au cours de l'infection évoluant vers la guérison.

45 sérums ont été étudiés afin de déterminer leur activité complémentaire et leur taux d'anticorps. Chaque série de dosage comprenait des sérums d'origine variée : rat normal, rat en début d'infection, rat en fin de maladie ou en état de prémunition. On a ainsi constamment des témoins négatifs et des témoins positifs. On groupe les résultats selon la date du prélèvement du sang et selon la quantité de parasites trouvés dans le sang et on établit le schéma suivant correspondant aux variations sérologiques constatées chez des rats atteints d'une infection de gravité moyenne évoluant spontanément vers la guérison.

Jours de la maladie	Nombre d'hématies parasitées	Taux alexique	Taux d'anticorps
Avant	0	10 u	0
3e jour	0	10 u	0
5e jour	1 p. 100	10 u	0
7e jour	8 p. 100	5 u	0
10e jour	40 p. 100	0 u	1/4
12e jour	50 p. 100	0 u	1/10
15e jour	0	20 u	1/20
30e jour	0	10 u	1/20
60e jour	0	10 u	1/20

Le taux alexique est relativement stable chez les rats normaux. Toutes choses égales dans la réaction, le sérum de rat normal a une activité complémentaire 20 fois plus faible que celui du cobaye. Durant la maladie, l'alexinémie varie en sens inverse de l'infestation sanguine : un parasitisme faible entraîne une légère chute de l'alexine, une infection massive fait disparaître tout pouvoir alexique. Il faut remarquer qu'on constate assez souvent une hyperalexinémie de guérison, fait déjà observé au cours du paludisme humain (77).

Les anticorps apparaissent vers le huitième-dixième jour après la première mise en évidence des parasites dans le sang. Leur taux augmente jusqu'au quinzième jour puis reste constant pendant plus de deux mois. Et même, chez un rat infecté six mois auparavant, nous avons constaté la persistance d'une fixation de complément positive pour un sérum dilué au 1/5.

2°) Rapport entre le taux des anticorps et l'évolution de la maladie.

Ainsi que nous l'avons signalé, la chute et la disparition de l'alexine est fonction directe de la parasitémie ; ce ne peut être un facteur du pronostic, de même que dans le paludisme humain. Nous avons recherché s'il en était de même pour le taux des anticorps en comparant ce taux avec celui de la parasitémie (taux maximum de globules rouges parasités) et l'évolution de la maladie. Le sérum a été examiné sérologiquement en fin d'infection, soit au moment de la guérison, soit après la mort de l'animal. Les chiffres suivants ont été notés :

Numéro des animaux	Taux maximum de la parasitémie	Taux des anticorps	Evolution de la maladie
23	80 p. 100	1/20	mort
62	20 p. 100	1/10	guérison
63	60 p. 100	1/10	mort
105	45 p. 100	1/16	guérison
144	12 p. 100	1/2	guérison
145	60 p. 100	1/20	mort
149	50 p. 100	1/10	sacrifié

Le taux des anticorps semble donc en rapport direct avec l'importance de l'infection sanguine. Cependant, quatre sérums d'autres animaux morts après une infection intense ne présentaient pas d'anticorps. Ces exceptions mises à part, il apparaît que plus l'infection sanguine est intense et plus le taux des anticorps est important. Ce taux ne peut donc, pas plus que celui de l'alexine, permettre de prévoir l'évolution de la maladie.

En résumé :

« *Plasmodium berghei* se comporte chez le rat comme un antigène classique : il provoque la formation d'anticorps et réagit spécifiquement avec eux ; les anticorps apparaissent vers le dixième jour de la maladie. Leur taux s'accroît jusqu'au quinzième jour puis reste constant pendant deux mois. Six mois après l'infection il est encore possible de déceler ces anticorps à un taux plus faible ». Mais, il n'est pas prouvé que ces anticorps jouent un rôle réel dans le mécanisme immunitaire.

4° *Existence d'un facteur humoral diminuant le nombre des mérozoïtes.*

W.L. Taliaferro et L.G. Taliaferro ont montré que dans l'immunité antimalarique on avait :

1) Un allongement de la durée du cycle asexué ;

2) Une diminution du nombre moyen des mérozoïtes produits à chaque segmentation ;

3) Une destruction d'un nombre de plus en plus grand de mérozoïtes.

Seul le deuxième de ces facteurs peut être apprécié et est manifeste dans le cas de l'infection du rat : le nombre de mérozoïtes par rosace passe de 18 à 30 en cours d'infection à 6, 12 en fin d'infection comme nous l'avons vu. Pour ces deux auteurs : « la diminution du nombre des mérozoïtes par rosace est vraisemblablement due à une action antiparasitaire de quelque facteur sérologique ».

En conclusion :

Si certains faits sont bien établis : intervention de la phagocytose, rôle de la rate et des surrénales, apparition d'anticorps spécifiques, il ne faut pas oublier qu'il existe encore de nombreuses inconnues dans le mécanisme de l'immunité dans le paludisme du rat.

CHAPITRE IX

ANATOMIE PATHOLOGIQUE

I. Frottis d'organes

Les frottis ont été obtenus soit par ponction d'organes sur l'animal vivant, soit surtout, chez le cadavre, par empreintes de tranches de section d'organes, puis colorés par la technique de Giemsa. Ces frottis ont été pratiqués chez presque tous les animaux décédés et ont donné des résultats concordants. Sauf indications contraires, nous indiquons les résultats obtenus après une infection mortelle.

Foie.

Le frottis du foie montre de très nombreux hématozoaires, en proportion plus abondante que dans le sang périphérique ou que dans n'importe quel autre organe. Ces hématozoaires sont à des stades très divers : trophozoïtes, schizontes, rosaces (toujours plus nombreuses que dans le sang). Ils sont contenus dans les hématies, mais une proportion importante d'entre eux apparaît libre en dehors de toutes cellules. Il y a aussi de nombreux macrophages, contenant du pigment mélanique, en grains de taille variable, des hématies et des *Plasmodium*, mais, fait remarquable, on ne voit dans le cytoplasme de ces cellules que des hématies sans parasites ou des hématozoaires libres ; nous n'avons vu qu'une fois sur plus d'une centaine de frottis examinés, une image de phagocytose d'un globule rouge contenant un trophozoïte. Enfin, on remarque une érythroblastose importante.

Sur un animal sacrifié au début de la période patente

de l'infection, les hématozoaires sont en petit nombre comme dans le sang, mais on remarque la présence de rosaces alors qu'il n'en existe pas dans le sang périphérique. Les grains de pigment sont rares et de petite taille ou même manquent.

Rate.

Les constatations sont comparables chez un animal mort d'infection : abondance d'hématozoaires, de pigment, d'érythroblastes. Mais il y a encore plus de pigment que dans le foie ; par contre, les hématozoaires sont moins nombreux.

Si l'animal a été sacrifié au début de l'infection, il y a une plus forte proportion de parasites dans la rate que dans le foie.

Poumon.

Grand nombre d'hématozoaires (trophozoïtes, schizontes, rosaces) ; macrophages avec images de phagocytose ; pigment.

Moelle osseuse.

Les hématozoaires ne sont pas plus abondants que dans le sang ; macrophagie peu importante ; présence de pigment.

Cerveau.

Les frottis de la corticalité cérébrale montrent l'existence de très nombreuses hématies parasitées.

Surrénales.

Le nombre des hématies parasitées est très variable : dans certains cas il y en a autant que dans le poumon, dans d'autres moins que dans la moelle. Peu de macrophages, peu de pigment.

Rein.

Les frottis ne montrent jamais un grand nombre d'hématozoaires ni de macrophages.

Commentaires.

1° Il est intéressant de souligner la plus ou moins grande richesse des organes en hématozoaires (telle que la révèle la méthode des frottis) chez l'animal mort de paludisme :

	hématozoaires	Pigment
Foie	+ + + + +	+ + + +
Poumon	+ + + +	+ + +
Cerveau	+ + + +	+ +
Rate	+ + +	+ + + +
Moelle	+ +	+ + +
Rein	+	+

Donc en premier lieu, le foie ; puis poumon et cerveau, rate, moelle, rein. Nous n'avons pas fait figurer les surrénales sur ce tableau car nous avons indiqué que leur richesse en parasites est très variable.

2° si l'animal est sacrifié au début de l'infection, la richesse relative en parasites du foie et de la rate est inversée : il y alors plus d'hématies parasitées dans la rate que dans le foie et dans le sang.

3° La schizogonie se produit surtout dans les organes profonds, où les rosaces sont plus nombreuses que dans le sang périphérique.

4° Nous n'avons pas vu de *formes exo-érythrocytaires* comparables à celles qui ont été décrites pour de nombreuses autres espèces plasmodiales et à celles que L. Van Den Berghe, I.H. Vincke et M. Chardome ont signalé, dans le cas de l'infection de souris par *Plasmodium berghei*. Une seule fois, dans le foie d'un rat très infecté, il nous a été donné d'observer une image ressemblant à celle de Van Den Berghe : masse multinucléée dans un macrophage. Mais nous n'osons pas affirmer qu'il s'agisse de forme exo-érythrocytaire.

5° La réaction macrophagique est très importante. Ces macrophages contiennent des débris cellulaires, des globules rouges, des hématozoaires, des grains de pigment. Le fait que l'on ne voit pas de phagocytose de globules rouges parasités est très remarquable. Y aurait-il d'abord destruction de l'hématie contenant des hématozoaires, libération du parasite et phagocytose ultérieure ?

6° Le pigment s'accumule surtout dans les macrophages du foie et de la rate où il persiste longtemps après guérison

de la phase aiguë ; il peut être aussi extracellulaire. Le pigment n'existe en quantité importante qu'à partir de la période où il y a parasitémie élevée et destruction globulaire importante. Mais il se forme très précocement et très rapidement. C'est ce que montre une tentative d'inoculation intracardiaque massive que nous avons faite chez un rat neuf : par suite d'une faute technique, l'injection a été faite dans la plèvre ; l'animal a été sacrifié après 18 heures : dans le frottis de l'épanchement il y avait de très nombreux *Plasmodium* presque tous au stade de schizogonie et aussi un grand nombre de monocytes contenant des grains très fins de pigment.

II. Anatomie pathologique macroscopique

A l'autopsie d'un animal mort d'infection aiguë, on remarque :

1) La rate est très augmentée de volume, mesurant en moyenne quatre centimètres (en longueur), et pesant de un à trois grammes (poids normal : 0,30 à 0,70 gr.). Sa coloration est rouge foncé, presque noire.

2) Le foie est gros, de couleur marron foncé.

3) Les poumons sont pâles et leur couleur qui est rosée normalement est devenue presque grisâtre.

— L'anémie, l'accumulation de pigment et de globules rouges parasités expliquent facilement ces modifications de dimension ou de coloration.

III. Histologie pathologique

Les circonstances ne nous ayant pas permis de pratiquer des examens anatomo-pathologiques systématiques (qui feront l'objet de recherches ultérieures), nous nous bornerons à résumer les premiers résultats que nous a fournis le Professeur agrégé P. Laffargue :

Rate.

Congestion intense des cordons et des sinus altérant la structure de l'organe. Macrophagie pigmentaire intense. Réaction réticulaire.

Foie.

Dilatation et congestion des veines centrolobulaires. Présence de pigment dans les cellules de Kupfer. Réaction macrophagique. Présence de vacuoles graisseuses dans les cellules parenchymateuses.

Poumon.

Congestion veineuse intense. Œdème alvéolaire.

Cerveau.

Congestion capillaire. Accumulation de globules rouges et de leucocytes mélanifères provoquant l'obstruction de capillaires. Œdème cérébral.

IV. En résumé :

— Lésions viscérales multiples : spléniques, hépathiques et aussi cérébrales et pulmonaires.

— Réaction réticulo-endothéliale importante.

— Atteinte parenchymateuse hépatique, à rapprocher de la dégénérescence graisseuse que C. Levaditi a observé chez la souris.

— Accumulation de parasites et de pigment dans les viscères, tout spécialement dans le foie et dans la rate.

CHAPITRE X

ACTION DES MEDICAMENTS ANTIMALARIQUES

Nous n'avons pas essayé l'auréomycine que C. Levaditi a employé avec succès chez la souris, mais nous avons eu recours à la nivaquine et à la quinine dont J. Schneider (61) avait montré l'efficacité contre l'infection de la souris. Nous avons employé des doses comparables à celles utilisées par Schneider (en tenant compte des différences de poids des animaux).

I. Nivaquine

(A) Action de la nivaquine.

Nous rapportons ici les premiers résultats obtenus et qui, complétés, feront l'objet d'une publication ultérieure en collaboration avec G. Fabiani et G. Fulchiron.

Ce produit (3377 R.P. — diéthylamino - 4' méthyl 1' butyl - amino - 4 chloro 7 quinoléine), nous avait été obligeamment donné par les Laboratoires Spécia. Nous l'avons employé à la dose de 2 mgs en injection sous-cutanée quotidienne, chez 6 rats très infectés.

Rat 73

30/3/51	2/4	4	6	9	11	13	16	17	18	19	20	23	27
I.P.	0	1 %	3 %	25 %	40 %	50 %	65 %	65 %	30 %	5 %	0	0	0
								↓ Niv. 2 mgs	↓ Niv. 2 mgs	↓ Niv. 2 mgs			

Rat 75

30/3/51	2/4	4	6	9	11	13	16	17	18	19	20	23	27
I.P.	0	+	10 %	30 %	40 %	50 %	60 %	60 %	16 %	+	0	0	0

↓ Niv. 2 mgs ↓ Niv. 2 mgs ↓ Niv. 2 mgs

Rat 79

30/3/51	2/4	4	6	9	11	13	16	17	18	19	20	23	27
I.P.	0	+	5 %	12 %	30 %	40 %	50 %	60 %	20 %	1%	0	0	0

↓ Niv. 2 mgs ↓ Niv. 2 mgs ↓ Niv. 2 mgs

Chez les 3 autres rats, les résultats ont été identiques.

Les résultats ont été remarquables. En 3 jours, à raison d'une injection journalière, nous avons eu, dans le sang circulant, disparition complète de tous les hématozoaires. Durant ces 3 jours, les hématozoaires semblaient littéralement se désagréger à l'intérieur des hématies. Leur protoplasme semblait déchiqueté puis disparaissait. On ne voyait plus alors que la chromatine qui finissait aussi par disparaître.

Un autre rat, le 185, a reçu dans le péritoine, le 3/7/51 750 millions de globules rouges parasités, en même temps que nous lui injections 1 mgr. de nivaquine sous-cutanée. Une heure après l'injection, on voit apparaître dans le sang circulant les grosses hématies polychromatophiles du donneur et après 3 heures, on note la présence de trophozoïtes jeunes dans des hématies éosinophiles. Jusqu'à la 15e heure la courbe de parasitémie a été normalement ascendante puis s'est fixée en plateau de la 15e à la 24e heure, au taux de 1 % d'hématies parasitées. Le 4 nous lui faisons une autre injection de 1 mgr. de nivaquine. Après 4 heures un prélèvement de sang ne montre aucun changement dans le taux de

la parasitémie. Le 5, au contraire, nous ne voyons plus que quelques rares hématozoaires et l'examen du 6 est négatif. Sur un autre frottis fait le 12, nous ne trouvons, non plus, aucun hématozoaire. Mais le 16, nous nous apercevons que l'infection est repartie : il a 5 % de ses hématies parasitées. Puis l'infection devient plus sévère et il meurt le 22 avec un parasitisme de 30 %. Il ressort donc de cette expérience que la nivaquine n'a pas une action immédiate. Son action ne s'est fait sentir qu'entre la 4e et la 15e heure (Lors de la 2e injection nous n'avons pas noté de modification après 4 h.).

(B) Réinfection après nivaquine.

4 des 6 animaux qui avaient reçu de la nivaquine ont été réinoculés sans résultat. Puis, 30 à 45 jours après leur guérison, tous ont été splénectomisés. Chez aucun, nous n'avons eu la moindre sortie d'hématozoaires. 5 ont eu cependant un réveil d'une bartonellose latente. Par la suite, respectivement 22 et 16 jours après leur splénectomie, les rats 73 et 75 ont été surrénalectomisés. La surrénalectomie n'a pas provoqué, non plus, de réveil de leur paludisme. Ils ont eu cependant un nouveau réveil de leur bartonellose.

5 autres animaux guéris spontanément de leur infection ont eu, une semaine après leur guérison, pendant 4 jours consécutifs, une injection de 2 mgr. de nivaquine. 8 jours après, tous ont été à la fois surrénalectomisés et splénectomisés. Ils n'ont pas eu non plus de réveil de leur paludisme.

(C) Mécanisme d'action de la nivaquine.

Nous avons vu :

— que la nivaquine provoque rapidement la disparition de tous les hématozoaires ;

— que la réinoculation de rats ainsi traités n'a rien donné ;

— qu'après splénectomie et surrénalectomie, les rats n'ont pas eu de réveil de leur paludisme bien que, presque toujours, on ait provoqué le réveil d'une bartonellose latente.

Il semble donc que l'on a eu une disparition totale des hématozoaires, autrement dit une stérilisation de l'organisme, mais avec persistance de l'immunité, fait qui peut avoir une grande importance dans l'étude de l'immunité.

II. Quinine

Nous avons employé le formiate de quinine en injection sous-cutanée.

Nos essais ont porté seulement sur 3 rats en début d'infection (mais inoculés avec des doses massives : 250 millions de G.R. parasités). A raison d'une injection par jour, le premier a reçu 3 injections de 10 mgr., le deuxième 4 de 10 mgr. et le troisième 3 de 20 mgr.

L'action de la quinine a été nettement moins efficace que chez la souris (à des doses comparables à celles qui jugulèrent son infection). Les hématozoaires, de taille plus petite, rétractés sur eux-mêmes, semblaient génés dans leur développement mais, néanmoins, l'infection bien que ralentie a continué à progresser et ces trois animaux sont morts de leur paludisme.

COMMENTAIRES

TROISIEME PARTIE

COMMENTAIRES

I. COMPARAISON AVEC D'AUTRES MALADIES OU IL EXISTE UNE ATTEINTE PARASITAIRE DES GLOBULES ROUGES

Il nous a paru intéressant du point de vue de la pathologie générale de placer, en parallèle avec le paludisme du rat, d'autres affections qui sont également des maladies parasitaires d'hématies :

— l'infection d'autres espèces animales par ce même hématozoaire : le *Plasmodium berghei ;*

— le paludisme produit par d'autres espèces de *Plasmodium ;*

— la *bartonellose* des rongeurs et les piroplasmoses, maladies parasitaires des globules rouges, dans lesquelles existe aussi un état de prémunition.

Nous ne citerons pour ces diverses maladies que les principaux caractères, ceux qui les rapprochent ou les séparent du paludisme du rat.

A) Infection d'autres espèces animales par plasmodium berghei

Cet hématozoaire est essentiellement un parasite des rongeurs. En dehors de cet ordre, on ne connaît actuellement qu'une seule espèce sensible, appartenant aux Chirop-

tères. L'homme n'est pas réceptif (P. Durand et M. Mathis).

Souris blanche.

La souris blanche présente une infection plasmodiale dont les caractères sont légèrement différents de ceux que l'on voit chez le rat blanc : elle est beaucoup plus sensible que ce dernier à la maladie expérimentale ; cette plus grande sensibilité se manifeste dans l'évolution toujours fatale, dans certains caractères des globules rouges du sang périphérique, dans les voies d'inoculation.

a) La multiplication des hématozoaires aboutit sans exception à la mort de la souris blanche. Tous les auteurs ont, dès l'abord, signalé le fait et nos expériences personnelles portant sur plus de cent souris le confirment : nous n'avons jamais constaté de guérison spontanée, ni de rémission. On a donc affaire à une infection aiguë, d'allure pernicieuse, sans tendance à la chronicité. Ce caractère fait de la souris un meilleur objet d'études que le rat pour certaines recherches par exemple pour observer l'action des antimalariques.

b) L'hématologie de la souris en cours d'infection présente, dans la lignée rouge, quelques différences avec avec celle du rat impaludé. En effet, on n'observe ni érythroblastose, ni cette surabondance d'hématies polychromatophiles. Alors que chez le rat infecté, depuis quelques temps, les hématies parasitées sont pratiquement toutes de teinte bleutée, la souris présente encore bon nombre de globules rouges acidophiles parasités ; et les érythroblastes n'apparaissent jamais dans le sang.

c) Toutes les voies d'inoculation, qui s'avèrent efficaces chez le rat, le sont également chez la souris. Mais de surcroit celle-ci est sensible à l'injection *sous-cutanée* de sang virulent : comme nous l'avons vu, seuls les rats nouveau-nés sont, et de façon inconstante, aptes à contracter la maladie par cette technique.

Mus musculatus spretus.

P. Durand et M. Mathis ont constaté qu'une autre souris, Mus musculatus spretus, présente aussi une infection intense qui tue entre le 14e et le 24e jour.

Hamster doré.

P. Durand et M. Mathis ont aussi inoculé des Hamsters. Les deux premiers animaux présentèrent une forte infection et moururent d'anémie pernicieuse le 20e et le 23e jour. Les passages successifs montrèrent une augmentation de la virulence : au 8e passage, la mort survient en 12 jours. Par contre, les Hamsters de plus d'un an sont complètement réfractaires. J. Hill, étudiant cette même espèce, signale que la mort se produit en 18 jours.

Rattus rattus.

Il présente une infection mortelle dans la moitié des cas (Vincke et Van den Bulcke).

Thamnomys surdaster surdaster.

C'est chez ce rat sauvage qu'a été découvert l'hématozoaire. La mortalité est faible. Si cet animal « est dans une « large mesure susceptible au *Plasmodium berghei*,... il vit « pendant de longues périodes en équilibre avec le parasite ; « et il semble exister une immunité naturelle pour bon « nombre d'entre eux » (Vincke et Van den Bulcke).

Mérions.

Ed. Sergent et Mme Poncet ont étudié 6 mérions (Mériones shawi) et concluent que « le *Plasmodium berghei* se « montre très peu virulent pour le mérion. Tous les mérions « inoculés dans le péritoine ont été infectés, mais les para- « sites ont toujours été rares et n'ont apparu dans le sang « périphérique que pendant peu de jours ».

Pour P. Durand et M. Mathis, par contre, « l'infection « suivant l'âge, se présente sous toutes les formes depuis la « pullulation parasitaire massive des nouveau-nés jusqu'à « l'infection très légère de certains aldultes, décelable uni- « quement par l'inoculation à la souris ».

Cotton rat.

L'animal normal est réceptif mais n'a qu'une parasitémie très faible et de courte durée. L'ablation de la rate chez un animal apparemment guéri peut provoquer une rechute à évolution rapidement mortelle ou suivie d'un état de paludisme chronique de très longue durée. (RHODAIN).

Roussette.

Une chauve-souris, la Roussette (Roussetus leachi) a fait l'objet de recherches de J. Van RIEL : le *Plasmodium berghei* provoque une parasitémie passagère et guérissant spontanément. Mais si l'infection est faite à une chauve-souris préalablement splénectomisée, on obtient une infection aiguë et mortelle.

Lapin et cobaye.

VINCKE, en 1948, a signalé que ces animaux n'étaient pas sensibles. Mais R. DESCHIENS et LAMY ont montré la réceptivité du lapin nouveau-né.

Nous avons classé ces différentes espèces selon l'ordre de sensibilité décroissante au *Plasmodium berghei*. On voit donc que si la virulence est variable selon les espèces, l'infection des animaux autres que le rat blanc présente de nombreux caractères de l'infection murine : même allure aiguë de l'infection patente, même action aggravante du jeune âge et de la splénectomie.

B) Paludisme produit par d'autres espèces de plasmodium

Il faut aussi comparer le paludisme des rongeurs, dernier venu dans les divers paludismes, avec les infections plasmodiales des oiseaux, des singes et de l'homme, beaucoup plus étudiées, et qui présentent l'avantage de permettre la connaissance du cycle complet de l'hématozoaire, car l'on connaît, en général l'hôte définitif chez lequel s'effectue la reproduction sexuée.

1) Paludisme des oiseaux.

Il a fourni de précieux renseignements qu'il est intéressant de rapprocher de ceux obtenus chez le rat. Ainsi, à titre d'exemple, citons quelques résultats obtenus par Ed. et Et. Sergent en douze années de recherches par l'étude de 560 canaris infectés par *Plasmodium rélictum :* temps d'incubation de 3 à 10 jours, infection d'allure aiguë avec mortalitée de 61,3 %, puis pour les survivants passage à la chronicité, rate très augmentée de volume, immunité relative qui dure plusieurs mois, puis guérison vraie.

2) Paludisme des singes.

Si les oiseaux présentent l'avantage d'être un matériel d'étude qu'il est facile de se procurer, les singes ne permettent pas ces expériences multiples et aisées, mais, par contre, leur caractère de Primates permet d'extrapoler, avec de moins grandes chances d'erreurs, des résultats obtenus expérimentalement chez eux, avec ceux que l'on trouverait si l'on expérimentait sur l'homme. L'étude des principales espèces plasmodiales des singes (*P. brasilianum, cynomolgi, inui ; knowlesi, kochi*), ont montré que : la virulence est variable selon les espèces parasitées et selon les souches plasmodiales, mais peut être très élevée : c'est ainsi que le *P. knowlesi* même injecté à faibles doses provoque, chez *M. rhesus,* une mortalité de près de 100 % ; il y a résistance aux surinfections ; en cas d'infection latente la splénectomie détermine le plus souvent une rechute.

3) Paludisme humain.

L'affection produite chez l'homme par une des quatre espèces plasmodiales que l'anophèle peut lui inoculer est trop connue pour qu'il soit nécessaire d'en indiquer les traits principaux.

Mais il est nécessaire de rappeler quelques-unes des particularités du paludisme humain artificiellement produit, *paludisme « d'inoculation »*, transmis par la seringue de malade à malade, car cette maladie présente de nombreux caractères communs avec le paludisme du rat. Nous les emprunterons à la thèse de A. Huguenin ou à diverses publications de P. Mollaret :

— la durée de la période d'incubation dépend de la voie d'inoculation (en générale plus courte par voie intraveineuse que par voie sous-cutanée), de la quantité d'hématozoaires inoculés, du terrain, c'est-à-dire d'une susceptibilité individuelle plus ou moins grande (prémunition antérieure, incomptabilité sanguine, etc...) ;

— l'irrégularité fréquente de la courbe thermique qui correspond à une intrication de cycles parasitaires ;

— la guérison apparente spontanée avec les possibilités de récidives ;

— l'immunité relative consécutive.

C. Autres parasitoses érythrocytaires

Les différents paludismes sont des maladies parasitaires des globules rouges au cours desquelles apparaît un état de prémunition. Il est donc logique d'en rapprocher deux autres groupes d'affections dues aussi à un parasitisme des hématies et s'accompagnant de prémunition.

1) Piroplasmoses.

Il est facile de résumer les caractères généraux des piroplasmoses bovines d'après l'ouvrage de Ed. Sergent, A. Donatien, L. Parrot et F. Lestoquard (65).

Ce terme correspond aux affections produites par des microbes appartenant à trois familles : *Piroplasmides*, *Theilérides* et *Anaplasmides*, et à quatre genres ou sous-genres : *Piroplasme*, *Babesiella*, *Theileria*, *Anaplasma*.

Si l'on excepte *Theileria mutans*, à virulence trop faible, les quatre autres piroplasmes longuement étudiés dans cette publication de l'Institut Pasteur d'Alger y manifestent des caractères bien connus dans le paludisme.

Après inoculation de l'animal par piqûres de tiques ou par injection de sang d'animal contaminé, survient une phase aiguë de première invasion avec fièvre et multiplication des parasites dans le sang ; cette phase aiguë se termine soit par la mort (le taux de léthalité est variable suivant le parasite), soit par un stade métacritique d'infection chronique de lon-

gue durée (au moins plusieurs mois, et toute la vie pour certaines espèces). Cette période confère une prémunition (syn : « immunité relative », « immunité tolérance », « immunité d'infection »). La persistance des parasites au cours de la phase métacritique est mise en évidence par divers procédés comme l'isodiagnostic, la splénectomie ou simplement la constatations de rechutes parasitaires. L'anémie est constante au cours de la phase aiguë ; la rate régulièrement augmentée de volume ; la prédominance des autres atteintes viscérales (reins, foie...) variant suivant le parasite.

Il y a même un exemple de passage du parasite de la mère à un fœtus mis au monde quinze jours avant terme et qui vécut seulement quinze minutes : dans son sang on trouva de l'*Anaplasma marginale.*

Le rôle de protection de la rate est montré par la splénectomie qui provoque une rechute parasitaire souvent intense et très longue. Noter qu'avec *Theileria dispar* la splénectomie ne rend pas un bovin prémuni plus sensible à une surinfection : « la splénectomie provoque des rechutes. Mais d'après quelques observations, elle ne rend pas un bovin prémuni plus sensible à une réinoculation ».

Les passages successifs, suivant les stades de la maladie auxquels ont été effectués les prélèvements de sang et suivant l'espèce du parasite, donnent soit une augmentation de la virulence, soit une perte ou une diminution de la virulence, soit aucune modification de celle-ci. Avec les *Theileria,* on assiste à une perte des gamétocytes par passages successifs au moyen de sang.

Le phénomène de prémunition sera à la base des méthodes de protection du cheptel : on provoquera un accès aigu contrôlé grâce à des souches à virulence suffisamment faible pour ne pas provoquer la mort et suffisamment forte pour conférer une prémunition suffisante.

Il n'y a pas d'immunité innée absolue.

2) Bartonelloses.

Ces parasites des hématies sont très fréquents chez le rat, à l'état d'infection latente. A l'occasion d'une splénectomie,

l'infection est réveillée et produit une anémie intense souvent mortelle. Nous avons montré que la surrénalectomie peut aussi réveiller l'infection latente chez l'animal splénectomisé et guéri de cette rechute.

La bartonellose du rat a donc de nombreux caractères communs avec le paludisme du rat : anémie infectieuse aiguë, prémunition, rôle de la rate et des surrénales..

Il fallait donc signaler ici ces parasites érythrocytaires : les travaux qu'ils ont suscités peuvent fournir d'utiles renseignements au chercheur qui se penche sur les maladies à prémunition comme celle causée par *Plasmodium berghei.*

II. DISCUSSION DES RESULTATS DE NOS EXPERIENCES

A) Le rat blanc, inoculé expérimentalement par une injection de sang d'un animal atteint d'infection à *Plasmodium berghei,* présente une infection aiguë se traduisant habituellement par une parasitémie importante et une anémie sévère et rapide. Cette maladie se termine soit par la mort, soit par la guérison clinique. Les RECHERCHES ANTÉRIEURES qui avaient montré l'allure générale de la maladie, avaient montré aussi :

— la persistance de l'hématozoaire après guérison clinique ;

— l'action de la splénectomie sur la gravité de l'infection première ou sur le réveil du paludisme latent ;

— d'importantes modifications hématologiques ;

— l'existence de rapports entre l'âge, le poids des animaux et l'évolution de la maladie.

Rappelons que, pour d'autres rats, on avait constaté l'évolution de réinoculations.

Enfin, l'étude de la souris avait mis en valeur les points suivants :

— absence de période d'incubation ;

— importance des lésions hépatiques ;

— action des médicaments antimalariques.

B) Les recherches entreprises au Laboratoire de bactériologie de la Faculté de Médecine d'Alger, portant sur 220 animaux, ont permis d'apporter des PRÉCISIONS et des FAITS NOUVEAUX sur les points suivants :

1° *Les caractères de la maladie.*

— Si c'est une maladie toujours de brève durée, il y a une certaine diversité dans l'intensité de l'infection et dans les rapports entre la gravité et l'intensité de la parasitémie ;

— Une infection très légère et fugace est possible ; peut-être même y a-t-il parfois une infection inapparente ;

— La gravité, la durée et l'intensité de l'infection ne sont pas constamment en rapport avec le poids, l'âge et la dose inoculée ;

— Il faut mentionner le fait particulier de la mort survenant alors que l'infection est déjà sur son déclin, ou après disparition de la parasitémie ;

— Les formes ictériques ou bilieuses hémoglobinuriques.

2° *L'hématologie et l'histologie.*

Il faut surtout retenir l'anémie, mais aussi l'affinité particulière des hématozoaires pour les hématies polychromatophiles, phénomène (déjà vu par GALLIARD) qui a un grand intérêt pratique, puisqu'il permet de suivre chez un rat le sort des globules rouges parasités provenant d'un autre animal « donneur ». Il faut signaler la réaction réticulo-endothéliale (déjà observée par VINCKE), l'importance de l'atteinte hépatique, splénique et pulmonaire.

3° *La parasitologie.*

Nous avons apporté pour quelques animaux des numérations précises de la quantité d'hématozoaires présents dans le sang au cours de l'infection et montré comment on pouvait, en pratique, apprécier l'évolution de la parasitémie. Les courbes d'infection obtenues montrent une régularité dans la progression de l'infection qui est précieuse puisqu'on peut

alors apprécier de façon quantitative l'action des facteurs immunitaires, thérapeutiques, etc...

L'introduction d'une précision technique, la détermination du nombre d'hématies parasitées injectées, a permis de mettre en valeur la signification de la pré-patence et de mesurer la rapidité de la multiplication parasitaire. Grâce à elle, on a pu aussi affirmer le phénomène de la baisse de la virulence.

4° *Les caractères de l'immunité.*

— La résistance aux réinfections qui est due à la prémunition, peut-être à une immunité acquise persistant après disparition des hématozoaires ;

— Les différents facteurs de réveil de l'infection latente, en particulier l'ablation des surrénales, dont on ne connaissait pas encore l'intervention dans la prémunition ;

— Les épreuves quantitatives d'immunité introduites par G. Fabiani et R. Vargues qui font du rat un animal de choix pour ces études immunologiques ;

— Les modifications humorales : apparition d'anticorps spécifiques, baisse ou disparition de l'alexine sanguine pendant l'infection.

5° *Le passage transplacentaire.*

Il n'existait encore aucune confirmation expérimentale de cette question toujours débattue. Chez le rat, une infection placentaire intense aboutit, très rarement, à une traversée faible mais certaine d'hématozoaires.

6° *Les rapports avec la carence ou subcarence vitaminique A.*

Si le paludisme n'est jamais aggravé, par contre les troubles oculaires sont accentués par l'infection palustre et diminuent avec elle (en cas de pré-carence).

C) Il y a encore des inconnues et de nombreux problèmes à résoudre. Souvent nos expériences ne constituent que des jalons et suggèrent les voies dans lesquelles devront s'orienter les recherches futures.

Il serait, par exemple, utile de préciser la durée de l'infection latente, les causes de la baisse de la virulence, de l'échec de la voie sous-cutanée. Il faudrait approfondir le mécanisme de l'immunité et de l'intervention des surrénales, étudier l'action d'autres carences. Il faudrait aussi étudier le pouvoir pathogène d'autres souches de la même espèce, et, s'il en est qui produisent encore des gamétocytes, et que l'on connaisse un anophèle vecteur, il faudrait établir une comparaison avec le paludisme naturel du rat.

D) La COMPARAISON AVEC D'AUTRES MALADIES (où il y a aussi parasitisme des hématies et existence d'un état de prémunition) se révèle intéressante. Certes, les points communs sont très nombreux et le bref résumé que nous avons donné précédemment montre avec quelle monotonie nous retrouvons des caractères généraux identiques.

1° Nous constatons ainsi pour la description de la maladie du rat, la suite des différents stades décrits dans les autres *infections plasmodiales* telles que W.H. TALIAFERRO les résume dans le traité « Malariology » de BOYD : « Les infections non mortelles, sans traitement, sont caractérisées par les périodes successives suivantes :

1) une période pré-patente pendant laquelle les parasites ne sont pas décelables dans le sang, microscopiquement ;
2) élévation aiguë de l'infection quand les parasites augmentent plus ou moins régulièrement jusqu'à :
3) une densité maximum ;
4) déclin des parasites pendant que la parasitémie décroît et qui peut être assez rapide pour se terminer par une crise ;
5) période chronique pendant laquelle on peut encore trouver des parasites dans le sang, habituellement en petit nombre ;
6) période subpatente quand on ne peut plus déceler de parasites dans le sang ;
7) rechute parasitaire quand les parasites augmentent de nombre pendant les périodes chroniques ou latentes ».

Seule la période chronique nous paraît manquer ou être brève, et il n'existe pas de rechutes spontanées.

2° De même, pour ce qui est des *caractères généraux du paludisme artificiellement transmis,* par injection de throphozoïtes : nous les retrouvons aussi et le tableau de Boyd indique des faits régulièrement observés dans le paludisme artificiel du rat.

Comparaison des caractéristiques des paludismes naturel et artificiel à vivax

(par Mark F. Boyd)

	INOCULATION	
CARACTÉRISTIQUES	NATURELLE	ARTIFICIELLE
Effet de l'inoculation massive	Ne peut pas supprimer l'incubation ou la période prépatente ou les réduire au-dessous d'un intervalle minimum. Il n'y a pas de parasites dans le sang pendant au moins 6 jours.	Les deux peuvent être entièrement supprimées. Les parasites sont immédiatement décelables.
Effet de l'administration de médicaments antipaludiques.	N'est pas sûre de stériliser l'infection. Les infections à Vivax rechutent fréquemment.	Peut stériliser les malades d'une infection à Vivax.
Reprise de l'activité clinique.	Les infections à Vivax peuvent avoir des recrudescences et même si des médicaments antipaludiques ont été donnés, on peut avoir des rechutes.	Possibilité de récrudescence seulement.
Effet de l'inoculation au cours d'un traitement antipaludique.	Peut occasionner des périodes d'incubation prolongées, surtout dans les infections à Vivax.	Détruit les parasites inoculés.

Toutefois, dans le cas du rat, on ne peut guère établir de différence entre rechute et récidive : cette distinction nous paraît d'ailleurs secondaire. Nous retrouvons, et c'est fâcheux, dans l'infection du rat, cette intrication des cycles fréquente dans certains paludismes artificiels, tels que le paludisme humain d'inoculation, mais que l'on n'a pas dans tous les paludismes produits par trophozoïtes, puisqu'on ne l'observe pas toujours dans le paludisme congénital de l'homme, ni dans le paludisme des singes, et c'est ce qui a permis les importantes recherches de TALIAFERRO.

E) Il y a toutefois des PARTICULARITÉS dans ce paludisme du rat, des différences avec les autres infections plasmodiales, utiles à retenir, car elles indiquent à l'*expérimentateur* qui veut étudier, tel point particulier de la pathologie générale des infections palustres, à quelle espèce d'hématozoaires et à quel hôte intermédiaire, il faut recourir.

Signalons celles qui nous paraissent essentielles :

1) infection sanguine importante, pratiquement toujours mortelle chez les petits rats et fatale chez la moitié des rats adultes environ ;

2) brièveté de l'attaque aiguë, quelle que doive être son évolution ;

3) malgré cette brièveté importance :

   — de l'atteinte hépatique,

   — de la réaction réticulo-endothéliale,

   — des modifications sanguines ;

4) du point de vue parasitologique : intrication des cycles asexués et absence de formes sexuées et de formes exo-érytrocytaires ;

5) la grande taille et la teinte (polychromatophilie) des hématies d'un animal très infecté les rend faciles à reconnaître, d'où possibilité d'introduire un nombre d'hématies parasitées important (par rapport au nombre total d'hématies de l'animal) et de suivre ensuite le sort de ces globules rouges et la multiplication des parasites ;

6) régularité de la progression de la parasitémie, grâce à laquelle on peut juger l'action d'un facteur immunitaire ou thérapeutique ;

7) inégalité du parasitisme du foie, de la rate et des poumons ;

8) sensibilité très grande à certains agents thérapeutiques comme la nivaquine.

CONCLUSIONS

Nos recherches, portant sur 220 animaux, ont insisté sur les points suivants :

1° Les caractères de la maladie, ses diverses formes évolutives, l'allure de l'infection des nouveaux-nés, la réalité de l'infection transplacentaire du fœtus, les modifications hématologiques, les modifications humorales (disparition de l'alexine, apparition d'anticorps spécifiques), l'importance de l'atteinte hépatique. Cette étude nous a permis, par une connaissance plus approfondie de ce paludisme, de préciser diverses particularités de la maladie du rat et par comparaison avec d'autres infections plasmodiales, de souligner les analogies et les différences, ce qui peut être utile pour l'expérimentateur qui veut étudier tel ou tel point particulier de paludologie.

2° La signification de la période pré-patente de la maladie, grâce à une précision technique : l'inoculation de quantités connues d'hématozoaires.

3° L'association morbide : paludisme-carence en vitamine A, qui aggrave les manifestations oculaires de l'avitaminose.

4° Les caractères de l'immunité chez les animaux spontanément guéris : les épreuves quantitatives d'immunité proposées par G. Fabiani et R. Vargues (épreuves de l'inoculation intracardiaque massive et de l'inoculation intrapéritonéale massive) permettent d'apprécier avec précision le degré de l'immunité. Cette résistance à une réinfection traduit un état de prémunition ; il est possible qu'il existe aussi un état d'immunité avec disparition des hématozoaires. L'infection latente peut être réveillée par différents facteurs : splénectomie (que nous avons pratiquée chez 31 rats), ablation des surrénales (dont nous avons montré le rôle), injection de sang, d'adrénaline, de sérum hémolytique.

5° L'influence d'agents antimalariques (quinine et nivaquine).

Vu : *Le Président de Thèse,*
G. FABIANI.

Vu : *Le Doyen,*
Ch. SARROUY.

Vu et permis d'imprimer :
Alger, le 20 octobre 1951.
Le Recteur,
GAU.

BIBLIOGRAPHIE

BIBLIOGRAPHIE

(1) Baldi (A.). — Sul quadro anemico nel infezione de *P. berghei. Riv. di Malariologia,* 1950, *29,* 349.

(2) Berghe (L. Van den), Vincke (I.), Chardome (M.). — La phase tissulaire du *Plasmodium berghei. Ann. de la Soc. Belge. Med. Trop.,* 1950, *30,* 79.

(3) Boyd (M.-F.). — *Amer. J. of Hyg,* 1925.

(4) Boyd (M.-F.). — *Malariology.* Saunders C°, Philadelphie, 1949.

(5) Bray. — *Transact of the Royal Soc. Trop. Med. and Hyg,* 1951, *44,* 362.

(6) Coggeshall. — Humoral Immunity in Malaria. *Symposium on Human Malaria,* Washington, 1951.

(7) Coggeshall et Eaton. — *J. of Exp. Med,* 1938, *67,* 871.

(8) Corradetti (A.). — Particolari fenomeni immunitari nell' infezione da *P. berghei. Riv di Parassitologia,* 1950, *11,* 201.

(9) Corradetti (A.) et Verolini (F.). — Relazioni tra P. berghei e cellule della seria rossa durante l'attacco primario nel rato albino. *Riv. di Parassitologia.* 1951, *12,* 69.

(10) Cotoni (L.), Truche (C.) et Mlle Raphael (A.). — Pneumocoque et affections pneumococciques. *Masson,* Paris, 1922.

(11) Cunningham. — *Physiological Review,* 1926, *6,* 242.

(12) Das Gupta. — *Indian Medical Gazette,* 1939, *74,* 397.

(13) Demidowa (L.-W.). — Ueber dic geringste zur Erzeugung der Experimentellen Malaria notige Plasmodium prœcox. *Giorn. di Batt,* 1934, *13,* 872.

(14) Deschiens (R.) et Lamy (L.). — Infection expérimentale du lapin par *Plasmodium berghei.* Vincke et Lips. *Bull. Soc. Path. Exot.* 1951, *44,* 405.

(15) Dulaney, Stratmann-Thomas et Warr. — *J. of Inf. Dis,* 1942, *70,* 221.

(16) Durand (P.) et Mathis (M.). — Sensibilité du Hamster dosé au P. berghei. *C. R. Ac. des. Sciences,* 1950, *231,* 633.

(17) Durand (P.) et Mathis (M.). — Sensibilité de 3 rongeurs sauvages tunisiens au *P. berghei. LXX*e *Congrès de l'Ass. Fr. Avanc. des Sciences,* Tunis, Mai 1951.

(18) Fabiani (G.), Vargues (R.), Grellet (P.) et Mlle Clausse (J.). — Influence de la splénectomie sur des rats blancs spontanément guéris d'une infection expérimentale à *Plasmodium berghei. Soc. Biol. d'Alger,* Mars 1951.

(19) Fabiani (G.), Vargues (R.), Fulchiron (G.) et Grellet (P.). — Etudes des diverses voies d'inoculation expérimentales de *Plasmodium berghei* chez le rat blanc et la souris blanche. *Soc. Biol. d'Alger,* Avril 1951.

(20) Fabiani (G.), Jahier (H.) et Fulchiron (G.). — Infection transcutanée des rats et des souris nouveaux-nés par *Plasmodium berghei.*

(21) Fabiani (G.), Jahier (H.), Vargues (R.) et Fulchiron (G.). — Réalisation du paludisme congénitale chez le rat et la souris par traversée placentaire de *Plasmodium berghei. Soc. Biol. d'Alger,* Avril 1951.

(22) Fabiani (G.), Jahier (H.), Vargues (R.) et Fulchiron (G.). — Etude de l'infection transplacentaire et de l'infection transcutanée des nouveau-nés, au cours du paludisme expérimental des rongeurs. *XIII^e Congrès des pédiatres de langue française,* Alger, Mai 1951.

(23) Fabiani (G.), Vargues (R.), Fulchiron (G.), Grellet (P.) et Mme Vérain (A.). — Facteurs et signification de la période prépatente dans le paludisme expérimental à *Plasmodium berghei. Soc. Path. Exot.,* Juin 1951.

(24) Fabiani (G.), Mlle Izzo (M.-A.) et Grellet (P.). — Réveil par la surrénalectomie d'infections sanguines latentes (à hématozoaires et à bartonelles), chez le rat blanc. *Soc. Biol. d'Alger,* Juin 1951.

(25) Fabiani (G.) et Vargues (R.). — Inoculation intrapéritonéale massive de *Plasmodium berghei* chez le rat blanc. *Soc. Biol. d'Alger,* Juillet 1951.

(26) Fabiani (G.) et Vargues (R.). — Comportement des hématozoaires de réinoculation dans le sang du rat guéri d'infection à *Plasmodium berghei. Académie des Sciences,* Juillet 1951.

(27) Fabiani (G.) et Grellet (P.). — Carence du rat blanc en vitamine A et paludisme expérimental à *Plasmodium berghei. Soc. Biol. d'Alger* (à paraître).

(28) Freund (J.), Thomson (K.-J.), Sommer (H.-E.), Walter (A.-W.) et Pisani (T.-M.). — Immunization of Monkeys against malaria by means of killed parasites with adjuvants. *Amer J. of Trop. Med.* 1948, *28.*

(29) Galliard (H.). — A propos du *Plasmodium berghei,* Vincke et Lips. *Bull. Soc. Path. Exot,* 1949, *42,* 431.

(30) Galliard (H.) et Lapierre (J.). — Effets de la splénectomie sur l'évolution de l'infection à *Plasmodium berghei* chez le rat blanc. *C. R. Soc. Biol.,* Mars 1950, *144,* 402.

(31) Galliard (H.) et Lapierre (J.). — Modifications hématologiques au cours de l'infection à *Plasmodium berghei* chez la souris. Essai de diverses substances non spécifiques. *Bull. Soc. Path. Exot.,* Juin 1950, *43,* 317.

(32) Galliard (H.) et Lapierre (J.). — Recherches sur le développement initial de *Plasmodium berghei. Bull. Soc. Path. Exot.,* Juillet 1950, *43,* 410.

(33) Galliard (H.) et Lapierre (J.). — L'infection à *Plasmodium berghei* chez le rat blanc. *V^e Congrès international de Microbiologie,* Rio de Janeiro, Août 1950.

(34) Galliard (H.) et Lapierre (J.). — Infection à *Plasmodium berghei* chez le rat blanc. *Bull. Soc. Path. Exot.,* 1951, *44,* 185.

(35) Hewitt. — Technics applicable to expérimental infection of birds. In Boyd's *Malariology.*

(36) Hill (J.). — Schizonticidal effects of some antimalarials against *P. berghei. Ann. of Trop. Med.*, 1950, *44*, 290.

(37) Howe (C.-D.) et Duff (F.-L.). — *Science* 22/2/1946, *103*, 223.

(38) Huguenin (A.). — Le paludisme d'inoculation. *Thèse Médecine*, Alger, 1934.

(39) Jahier (H.) et Fabiani (G.). — Le paludisme congénital. *XIII*e *Congrès des pédiâtres de langue française, Alger,* Mai 1951.

(40) Kitchen. — Falciparum, quartan and vivax malaria. In Boyd's *Malariology.*

(41) Klingler et Yoeli. — *Amer J. of Trop. Med.*, 1941, *21*, 531.

(42) Knisely, Bloch, Eliot et Warner. — *Science*, 1947, *106*, 431.

(43) Levaditi (C.) et Vaisman (A.). — Histopathologie de l'infection de la souris par *Plasmodium berghei. Bull. Soc. Path. Exot.*, 1950, *43*, 693.

(44) Levaditi (C.) et Vaisman (A.). — Activité antipaludique de l'auréomycine. *C. R. Ac. des Sciences*, 1950, *230*, 1908.

(45) Lippincott, Gordon, Hesselbrock, Marbel. — *J. of Clin. Inves*, 1945, *24*, 362.

(46) Maier et Coggeshall. — The duration of immunity to *plasmodium Knowlesi* malaria in Rhesus monkeys. *J. of Exp. Med.* 1944, *79*, 401.

(47) Mamorston-Gottesman et Perla. — The effect of bilateral supra-renalectomy in adult albino rats. *J. of. Exp. Med.*, 1932, *55*, 109.

(48) Mc Kee (F.-W.) et Steward (W. B.). — Passage of radioactives erythrocytes from the péritoneal cavitity into the blood stream during experimental ascites. *J. of Exp. Med.*, 1950, *91*, 599.

(49) Mollaret (P.). — L'injection de sang comme procédé de déclanchement des accès dans les échecs ou les arrêts du paludisme thérapeutique. *C. R. Soc. Biol.*, 1933 *113*, 299.

(50) Mollaret (P.) et Schneider (J.). — Contribution à l'étude de la paludothérapie. *Bull. Soc. Path. Exot.*, 1939, *32*, 207.

(51) Mollaret (P.) et Schneider (J.). — Une nouvelle méthode d'impaludation thérapeutique. *Presse Médicale*, 8 Mai 1940, 465.

(52) Raffaele (G.) et Baldi (A.). — Sulla morfologia et sulla transmissione di *P. berghei. Riv. di Mala*, 1950, *29*, 341.

(53) Rhodain (J.). — Comportement du Cotton rat vis-à-vis du *P. berghei.* Vincke et Lips. *Ann. Soc. Belge. Med. Trop.*, 1949 *29*, 484.

(54) Riel (Van). — Comportement de *Roussettus lacchi* vis-à-vis de *P. berghei. Ann. Inst. Pasteur*, 1950, *79*, 772..

(55) Rigdon (J.-H.). — *J. of Inf. Dis.* 1946, *79*, 272.

(56) Rigdon (J.-H.). — Blood sludge phenomenon. *Ann. of Clin. Path.* 1950, *20*, 946.

(57) Robertson, Wolf (S.) et Wolf (G.). — Blood sludge phenomenon in human subjects. *Ann. of Med. Sc.* 1950, *219*, 534.

(58) Robineaux (R.), Lebrun-Pagès (J.) et Delaunay (A.). — Le rôle des vitamines dans la résistance aux infections. *Annales de la Nutrition*, 1950, *4*, 5.

(59) Roos, Hegsted, Stare. — *J. of Nutrition*, 1946, *32*, 473.

(60) Schneider (J.), Decourt (P.-H.) et Montézin (G.). — Sur l'utilisation d'un nouveau *Plasmodium* (*p. berghei*) pour l'étude et la recherche de médicaments antipaludiques. *Bull. Soc. Path. Exot.* 1949, *42*, 449.

(61) Schneider (J.) et Montézin (G.). — Technique d'utilisation au laboratoire de la nouvelle souche de *Pl. berghei* pour l'étude et la recherche de médicaments antipaludiques. *Bull. Soc. Path. Exot.*, 1950, *43*, 144.

(62) Schneider (J.) et Schneider (C.). — *Plasmodium berghei*. Absence d'incubation au cours du passage par voie intrapéritonéale. *Bull. Soc. Path. Exot.*, 1950, *43*, 324.

(63) Sergent (Ed.) et Sergent (Et.). — Sur le paludisme des oiseaux. *Ann. Inst. Pasteur*, 1918, *32*, 382.

(64) Sergent (Ed.). — La prémunition dans le paludisme. *Revue Col. Med. et Chir.*, 15/1/1935, *67*, 2 - 15/2/1935, *68*, 46.

(65) Sergent (Ed.), Donatien (A.), Parrot (L.) et Lestoquard (F.). — Etude sur les piroplasmes bovines. *Inst. Pasteur d'Algérie*, 1945.

(66) Sergent (Ed.) et Mme Poncet (A.). — Virulence du *Plasmodium berghei* pour le Mérion. *Arch. Inst. Pasteur d'Algérie*, Sept. 1950, *3*, 323.

(67) Sergent (Ed.). — Définition de l'Immunité et de la Prémunition. *Arch. Inst. Pasteur d'Algérie*, 1950, *28*, 429.

(68) Sergent (Et.) et Sergent (Ed.). — Peut-on déterminer la dose infectante minimum de sang parasité ? *Arch. Inst. Pasteur d'Algérie*, 1923, *1*, 276.

(69) Taliaferro (W.-H.) et Taliaferro (L.-G.). — Morphology and course of infection of *P. brasilianum* in Panamanian Monkeys. *Amer J. of Hyg*, 1934, *20*, 1.

(70) Taliaferro (W.-H.) et Taliaferro (L.-G.). — The effect of immunity on the asexual reproduction of *Plasmodium brasilianum*. *J. of Inf. Dis*, 1944, *75*, 1.

(71) Taliaferro (W.-H.). — Immunity to the malaria infections. In Boyd's *Malariology*.

(72) Thomas (T.-B.), Pomerat (C.-M.) et Frieden (E.-H.). — Cellular reactions in hœmo-Bartonella infected rats with anemia produced by antiblood immune serum. *J. of Inf. Dis*, 1949, *84*, 169.

(73) Thomson (K. J.). — *Roy Soc. Med.* 1919, *12*, 39.

(74) Thomson (K. J.), Freund (J.), Sommer (H. E.), Walter (A. W.). Immunisation of Ducks against malaria. *Amer. J. of Trop. Med.*, 1947, *27*, 79.

(75) Thurston (J. P.). — Action of proguanil on *P. berghei*. Inhibition by p. aminobenzoic acid. *Lancet*, 1950, *2*, 438.

(76) Thurston (J. P.). — The action of antimalarial drugs in mice infected with *p. berghei*. *Brit. J. of Phar. and Chemo*, 1950, *5*, 409.

(77) Vargues (R.). — L'alexinemie au cours des maladies infectieuses humaines. *Thèse Medecine*, Alger, 1947.

(78) VARGUES (R.). — Etude sérologique de l'infection expérimentale du rat blanc par *p. berghei :* disparition de l'alexine, présence d'anticorps fixant le complément. *Soc. Biol. Alger,* Mars 1951.

(79) VARGUES (R.), FABIANI (G.), et FULCHIRON (G.). — Etude sérologique de l'infection expérimentale du rat blanc par *Plasmodium berghei.* Variations quantitatives de la sensibilisatrice et de l'alexine au cours de la maladie. *Soc. Biol.,* Alger, Juillet 51.

(80) VARGUES (R.) et FABIANI (G.). — L'inoculation intracardiaque de *P. berghei.* Technique et intérêt de la méthode. *Soc. Biol. Alger,* juillet 1951.

(81) VARGUES (R.) et FABIANI (G.). — La réinoculation intracardiaque de *P. berghei* chez les rats guéris d'une infection première. *Soc. Biol. Alger,* Juillet 1951.

(82) VINCKE (I.-H.) et LIPS (M.). — Un nouveau plasmodium d'un rongeur sauvage du Congo : le *Plasmodium berghei. Ann. Soc. Belge. Med. Trop.,* 1948, *28,* 97.

(83) VINCKE (I. H.) et Van den BULCKE (M. A.). — Observations sur l'entretien de la souche K 173 du *Plasmodium berghei.* Vincke et Lips. *Ann. Soc. Belge. Med. Trop.,* 1949, *29,* 525.

(84) VINCKE (I. H.) et Van den BULCKE (M. A.). — Réaction du *Rattus rattus* vis-à-vis du *P. berghei. Ann Soc. Belge. Med. Trop.,* 1949, *29,* 537.

(85) VINCKE (I.-H.) et Van den BULCKE (M.-A.). — Réactions du *Thamnomys surdaster* vis-à-vis du *P. berghei. Ann. Soc. Belge. Med. Trop.,* 1949, *29,* 545.

(86) WEINMAN. — *Thèse Medecine,* Paris, 1935.

TABLE DES MATIÈRES

	Pages
Introduction	16
Plan	19
Ire PARTIE	
Historique	21
IIme PARTIE	
Techniques et matériel d'étude	29
Caractères généraux de la maladie du rat	32
Période pré-patente	34
Parasitologie	48
Hématologie	70
Etude clinique	80
Paludisme congénital	93
Paludisme du rat nouveau-né	95
Associations morbides	100
Etude et caractères de l'immunité	107
Nature de l'immunité	123
Mécanisme de l'immunité	125
Anatomie pathologique	132
Action des médicaments antimalariques	137
IIIme PARTIE	
Comparaison avec d'autres maladies parasitaires des G.R.	143
Discussion des résultats de nos expériences	150
Conclusions	157
Bibliographie	161